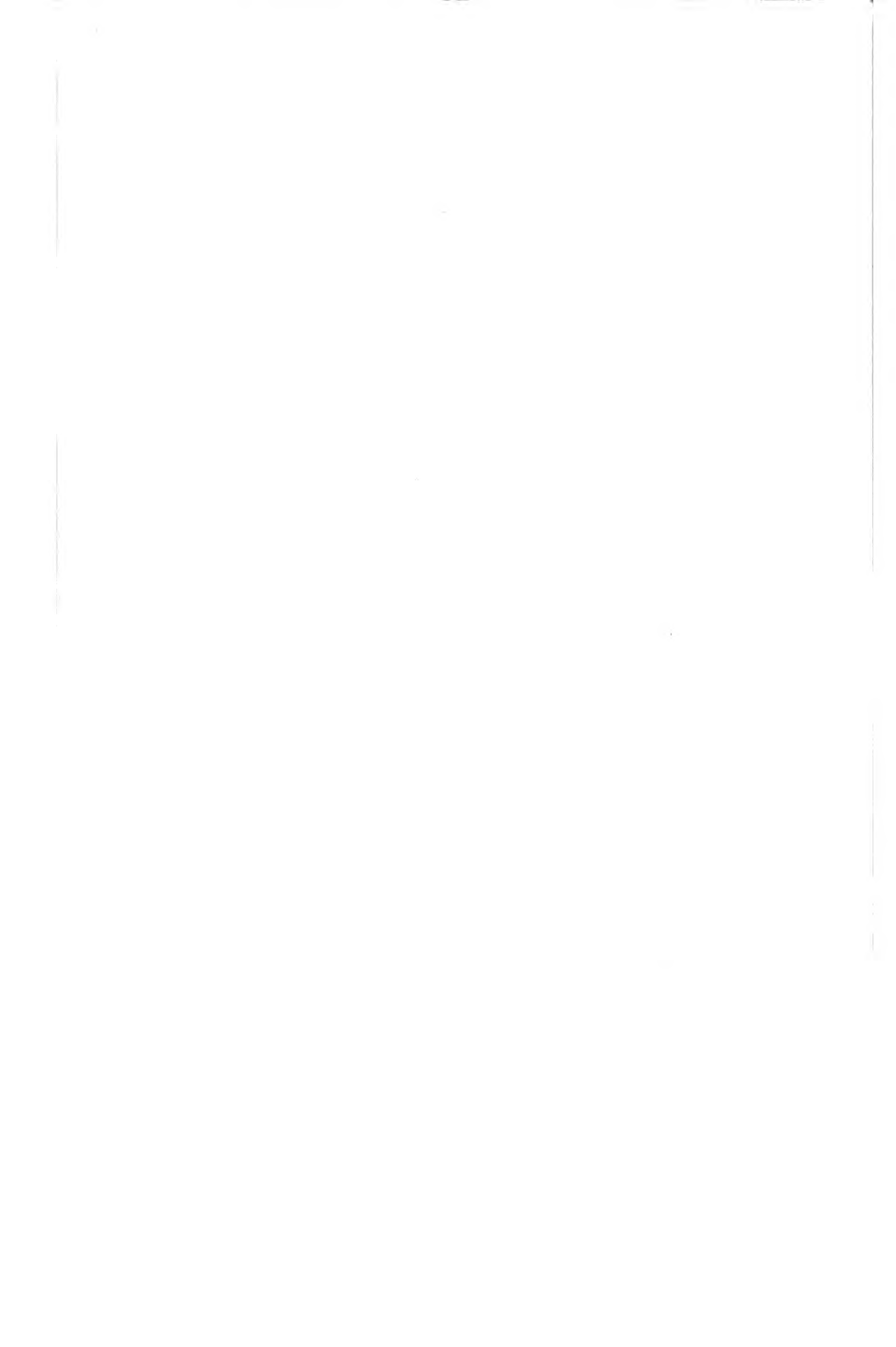
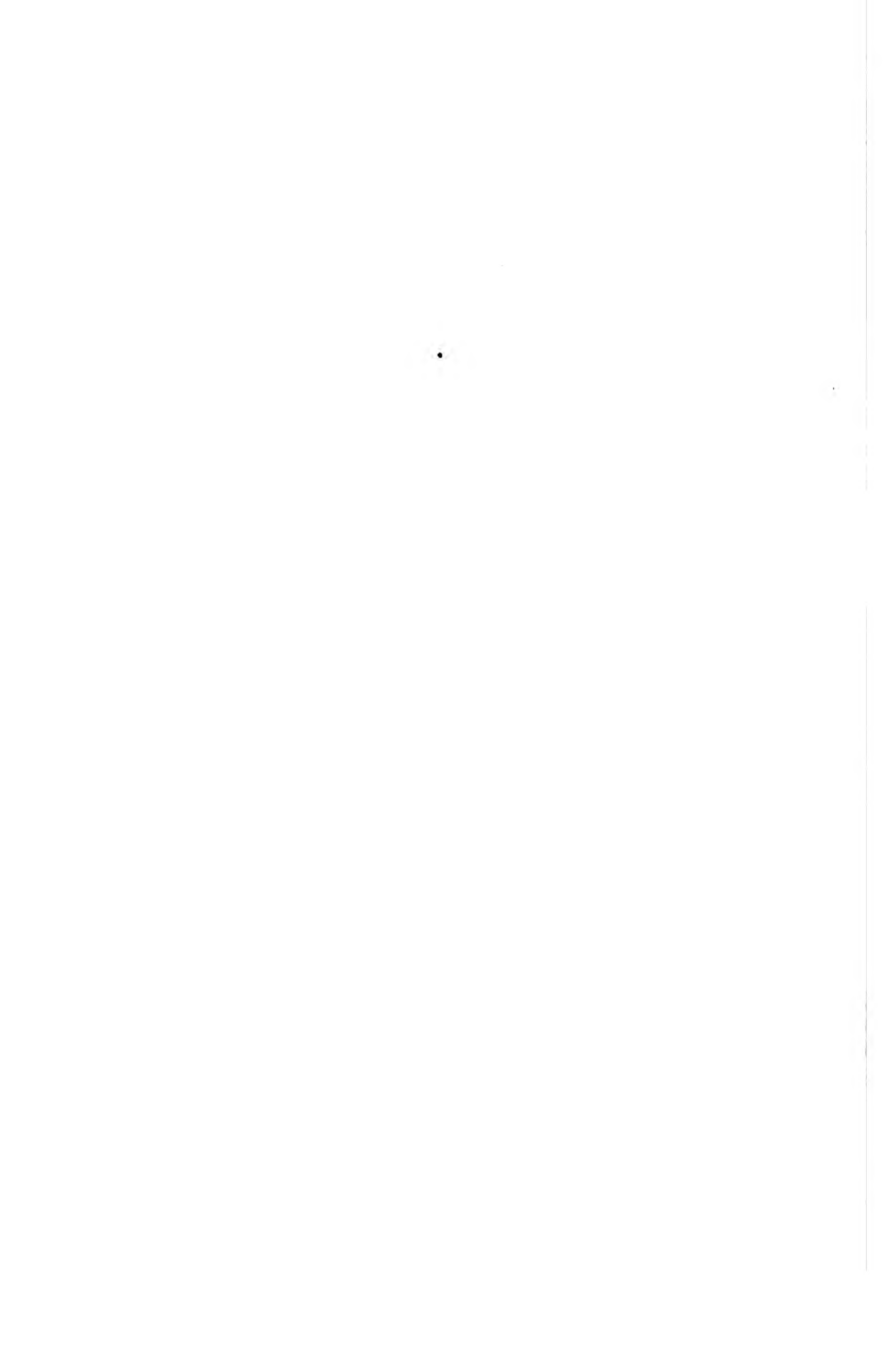




Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, **F. Hofmeister**-Straßburg i. Els., **C. v. Noorden**-Frankfurt a. M., **E. Salkowski**-Berlin, **F. Tangl**-Budapest, **A. von Wassermann**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Zweiundsiebzigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1916.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Über die elektrometrische Bestimmung der wahren Reaktion des Blutes.

Von

José M^a. de Corral.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Universität zu Valladolid.)

(Eingegangen am 12. August 1915.)

Die wahre Reaktion einer Flüssigkeit besteht in ihrer Konzentration an Wasserstoff- oder Hydroxylionen. Im allgemeinen versteht man jedoch, konform mit Friedenthal[1]), unter der wahren Reaktion die Wasserstoffionenkonzentration, ganz gleich, ob es sich um alkalische oder saure Flüssigkeiten handelt. Ist die $[H^{\cdot}]$ bekannt, so kann man leicht die $[OH']$ in den Fällen, wo es auf den letzteren Wert ankommt, berechnen.

An Stelle der Zahl, welche die $[H^{\cdot}]$ ausdrückt, benützt man in der Biologie jetzt immer mehr den gewöhnlichen Logarithmus ihres reziproken Wertes, wie es Sörensen vorgeschlagen hat. Dieser Autor bezeichnet ihn als Wasserstoffionenexponenten und stellt ihn durch $p_{H^{\cdot}}$[2]) dar.

Der Begriff des wirklichen Aciditäts- oder Alkalinitätsgrads entspricht dem früheren, so wenig korrekten Ausdruck der Säuren- oder Basenstärke. Dieser Begriff deckt sich absolut nicht mit demjenigen der Titrationsacidität oder Titrationsalkalinität, worunter man früher im quantitativen Sinne die Reaktion einer Flüssigkeit verstand.

Heute handelt es sich lediglich darum, ob man z. B. eine Flüssigkeit als sehr sauer bezeichnen soll, die eine hohe Wasserstoffionenkonzentration besitzt, oder ob man nur solche Flüssig-

---

[1]) Friedenthal, Zeitschr. f. Elektrochem. 10, 113, 1914.

[2]) Sörensen, diese Zeitschr. 21, 131, 1909.

keiten als sauer ansehen darf, die eine große Menge von Basen zu neutralisieren imstande sind. Je nach der Auffassung neigen einige Autoren mehr zu dieser, einige mehr zu jener Bezeichnung. Ich persönlich ziehe es, in Übereinstimmung mit der überwiegenden Mehrzahl der Forscher, vor, die wahre Reaktion als die Reaktion anzusprechen. Meiner Meinung nach kommt es nur darauf an, diese beiden gleich wichtigen Begriffe nicht miteinander zu verwechseln.

Es ist von großer Bedeutung, die wahre Reaktion des Blutes zu kennen; nicht minder wichtig ist es aber, seine Titrationsacidität oder Alkalinität bestimmen zu können, denn mittels dieser Werte vermögen wir, den Widerstand des Blutes gegen exogene oder endogene Säuren- oder Basenvergiftungen in einem gegebenen Augenblick zu bestimmen.

Zur Ermittelung der wahren Reaktion einer Flüssigkeit besitzt die physikalische Chemie bereits eine beträchtliche Zahl von Methoden. Die Mehrzahl jedoch kann zur Bestimmung dieser Reaktion bei biologischen Flüssigkeiten nicht angewandt werden. Für diese Zwecke sind nur zwei Methoden brauchbar, die colorimetrische und die elektrometrische Methode. Was das Blut anbetrifft, so kommt nur letztere, die zugleich die genauere ist, in Betracht, denn die colorimetrische ist wegen der Eigenfarbe des Blutes schlecht anwendbar. Bei der Messung der wahren Reaktion von Serum und Plasma hingegen bietet sie gute Dienste.

I.

Die elektrometrische Methode, deren Grundlagen wir Nernst[1]) verdanken, beruht bekanntlich auf der Herstellung einer Gaskette, einer Wasserstoffkette, und der Messung ihrer elektromotorischen Kraft. Die Wasserstoffkette setzte sich früher aus zwei Wasserstoffelektroden zusammen: der Untersuchungselektrode und der Vergleichselektrode, die durch eine Zwischenflüssigkeit miteinander verbunden waren.

Heute ersetzt man die Vergleichselektrode in der Gaskette durch eine Kalomelelektrode, deren Potential (π_0) gegen eine in [$H^{\cdot}$]-Atmosphäre tauchende Wasserstoffelektrode $= 1_n$, und deren feuchtes Gas bei einem Druck von 760 mm Hg bekannt ist.

Aus der elektromotorischen Kraft dieser Gaskette $+ (\pi)$ kann man die Wasserstoffionenkonzentration der zu messenden Flüssigkeit nach der wohlbekannten Formel[2]) ableiten:

$$-\log c = \frac{\pi - \pi_0}{0{,}0577 + 0{,}0002\,(t^0 - 18^0)},$$

[1]) Nernst, Zeitschr. f. physikal. Chem. **4**, 129, 1889.

[2]) Sörensen, Ergebn. d. Physiol. **12**, 415, 1912. — Corral, La reaccion actual de la sangre etc. **1914**, S. 32.

worin c die gesuchte [H˙] und t die Temperatur darstellt, bei der man die Messung vornimmt. Da $c = 10^{-p_{H^\cdot}}$ (Sörensen) ist, gestaltet sich die Gleichung wie folgt:

$$p_{H^\cdot} = \frac{\pi - \pi_0}{0{,}0577 + 0{,}0002\,(t^0 - 18^0)}.$$

Der Barometerstand beeinflußt selbstverständlich die elektromotorische Kraft dieser Kette, so daß dadurch der Wert von $p_{H^\cdot}$ ungenau wird. Beträgt der atmosphärische Druck, bei dem wir die EMK messen, nicht 760 mm, so würden wir dasselbe Resultat erhalten, als wenn wir das Potential einer Gaskette mit verschiedenem Gasdruck bestimmen würden, da es auf dasselbe herauskommt, ob wir die Kalomelelektrode oder eine Wasserstoffelektrode benutzen, in welcher der feuchte Wasserstoff unter einem Barometerdruck von 760 mm steht.

Die Korrektur dieser kleinen Ungenauigkeit führt man nach Ostwald und Smale mittels einer Gleichung aus, die für unsere Zwecke auf folgende Weise geschrieben werden kann (Sörensen):

$$\pi_{760} = \pi_q + \frac{0{,}0577}{2} \log \frac{760}{q} \text{ Volt.}$$

q ist der atmosphärische Druck, bei dem man das Potential π_q mißt und π_{760} dasjenige, das die Gaskette bei normalem Druck ergeben sollte.

Sörensen hält es nur bei sehr genauen Messungen für nötig, den Barometerstand zu berücksichtigen. Doch ist zu bedenken, daß jener Autor in Kopenhagen arbeitet, wo der atmosphärische Druck nur wenig vom normalen abweicht. An meiner Arbeitsstätte, in Valladolid, muß man diesen Fehler korrigieren, selbst wenn es sich um Messungen von Eiweißflüssigkeiten handelt. Für einen Druck von 700 mm, bei dem ich meine Beobachtungen angestellt habe, ergibt sich ein Fehler von:

$$\pi_{760} = \pi_q + \frac{0{,}0577}{2} \log \frac{760}{700} \pi_q + 0{,}0010 \text{ Volt,}$$

der unbedingt berücksichtigt werden muß.

Was aber vernachlässigt werden kann, wenn es sich nicht um überaus exakte Bestimmungen handelt, das sind die Schwankungen dieses Druckes an den verschiedenen Beobachtungstagen (von 690 bis $<$ 710 mm); 10 mm Unterschied im Druck verursachen einen Fehler im Potential von 0,17 Millivolt, wie man aus der oben angegebenen Formel leicht berechnen kann. Für Blut und andere eiweißhaltige Flüssigkeiten ist diese Genauigkeit nicht erforderlich, da ohnehin die elektrometrische Bestimmung ihrer Reaktion nicht bis zu diesem Grade der Präzision ausführbar ist.

Die Zuverlässigkeit der elektrometrischen Methode hängt, wie wir wissen, von der Natur der zu messenden Flüssigkeit ab. Die größte Genauigkeit (Abweichung von $\pm$ 1 Millivolt) erzielt man bei den Flüssigkeiten von einfacher Zusammensetzung; in den Eiweißlösungen kann man nur auf eine Genauigkeit bis auf $\pm$ 3 Millivolt rechnen (Sörensen[1]).

Eine Abweichung in der EMK von $\pm$ 3 Millivolt entspricht, bei gleichem Druck und gleicher Temperatur, ungefähr einem Unterschied

[1]) Sörensen, Ergebn. d. Physiol. 12, 415, 1912.

in dem Werte von p_H. von $\pm$ 0,05 bis 0,06 und in demjenigen der [H˙] von $\pm$ 10 bis 15 % des Gesamtwertes.

Die Technik der elektrometrischen Bestimmung der wahren Reaktion einer Flüssigkeit, oder kürzer, die Elektrometrie umfaßt zwei Teile: Herstellung des Elementes und Messung seiner EMK. Zur Bestimmung der letzteren benützt man heute ausschließlich die von Poggendorff ausgearbeitete und von Du Bois-Reymond verbesserte Kompensationsmethode.

Als Widerstand habe ich die Ostwaldsche Meßbrücke benützt. Michaelis[1]) empfiehlt zwei genau gleiche Widerstandskästen zu je 1100 Ohm als zweckmäßiger. Manabe und Matula[2]) haben eine verlängerte Meßbrücke von einem Gesamtwiderstand von 100 Ohm benutzt, die eine 10 mal so große Genauigkeit als die gewöhnlichen Meßbrücken gestattet.

Behält man aber die Fehlergrenze der Methode im Auge, so genügt die Genauigkeit einer gut kalibrierten Ostwaldschen Meßbrücke vollständig für biologische Flüssigkeiten, sogar auch für einfach zusammengesetzte Lösungen. So habe ich unter Verwendung der Ostwaldschen Meßbrücke für die [H˙] des Michaelisschen Gemisches von Essigsäure und Natriumacetat (10 ccm n-NaOH + 20 ccm n-Essigsäure + 70 ccm dest. Wasser) Werte erhalten, die vorzüglich mit denjenigen übereinstimmen, die der genannte Autor mit der sicherlich genauesten Methode der Widerstandskästen erzielt hat. Da die Ostwaldsche Brücke hinreichend genau und überdies viel billiger ist, gebe ich ihr den Vorzug.

Bei der Eichung des Brückendrahtes bin ich nach der Methode von Strouhal und Barus[3]), wie sie von Guzmán[4]) modifiziert und vereinfacht worden ist, verfahren.

Als Nullinstrument wurde ein Lippmannsches Capillarelektrometer in der von Ostwald-Luther gegebenen Anordnung, konstruiert von Koehler in Leipzig (Modell Nr. II), verwendet.

Als Normalelement habe ich ein geprüftes Original-Weston-Standard-Element benutzt. Gegenüber dem internationalen Weston-Element hat es den Vorteil eines Temperaturkoeffizienten, den man vernachlässigen kann. Die Dezinormal-Kalomelelektrode diente als Vergleichselektrode.

Zur Herstellung der $^n/_{10}$-KCl-Lösung für diese Elektrode genügt es, das KCl (das reinste von Kahlbaum) nach vorherigem Kochen (30 Minuten lang) bei 120° und Abkühlen in einem Trockenapparat genau abzuwiegen, die gewogene Menge in dem nötigen exakt bemessenen Quantum dest. Wassers aufzulösen.

---

[1]) Michaelis, Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. (Abderhalden) **5**, 1. Teil, S. 500, 1911.

[2]) Manabe und Matula, diese Zeitschr. **52**, 369, 1913.

[3]) Ostwald-Luther, Handb. u. Hilfsb. z. Ausführung physikochem. Messungen, 3. Aufl., Leipzig, 1910.

[4]) Guzmán, Zeitschr. f. Elektrochem. **19**, 301, 1913; Anales de la Soc. española de Fisica y Quimica **11**, 347, 1913.

Bei Benutzung dieser Elektrode muß man es vermeiden, sie zu schütteln, denn wie ich es oft beobachten konnte, verursacht jede Bewegung eine Abnahme des Potentials um mehrere Millivolt, die erst nach einiger Ruhezeit wieder verschwindet.

Als Potentialwerte dieser Elektrode gegen den der 1 n-Wasserstoffelektrode habe ich die von Sörensen[1]) für verschiedene Temperatureu angegebenen benutzt. In den Fällen, wo ich die Messungen bei Temperaturen unterhalb 18° ausgeführt habe, rechnete ich mit dem Potentialwert dieser Elektrode bei 18°, da ich für diese Temperaturen keine Werte kenne. Der dadurch bedingte Fehler kann vernachlässigt werden, da durch solche Temperaturunterschiede, wenn sie gering sind, äußerst kleine Abweichungen entstehen. So habe ich mit der Standard-Acetatlösung von Michaelis dieselben Werte für p_H. mit einer Abweichung von $\pm$ 1 Millivolt bei 18° wie bei 14 bis 17° erhalten.

Manabe und Matula[2]) behaupten, daß die Ausschläge im Elektrometer während der Kompensation der mit dieser 0,1 n-Elektrode gebildeten Gaskette wegen ihrer geringen elektrischen Leitfähigkeit sehr kleine sind. Die Region, innerhalb der das Elektrometer keine sichtbaren Ausschläge zeigt, ist daher ziemlich breit, und die Messung wird infolgedessen ungenauer. Zur Vermeidung dieses Übelstandes hat Pauli die Benutzung der Normalkalomelelektrode empfohlen, deren Gefäß er überdies zur Vergrößerung der Leitfähigkeit etwas verändert hat. Bei einer Meßbrücke jedoch, wie ich sie verwende, fällt diese Ungenauigkeit ganz weg, da bei Änderuug des Kontaktes um 0,1 mm — und das ist der Höchstbetrag — sich im Elektrometer immer Ausschläge einstellen, die mehrere Teilstriche umfassen.

Michaelis[3]) empfiehlt jetzt als Vergleichselektrode die von ihm „gesättigte Kalomelelektrode" benannte. Sicherlich bietet sie einige Vorzüge im Vergleich zur dezinormalen, doch arbeite ich mit letzterer, weil die Erfahrung mit ihr schon größer ist.

Um ganz sicher urteilen zu können, ob die Kalomelelektrode gut arbeitet, benutze ich zwei. Ich bilde das Element erst mit einer von beiden und der Untersuchungselektrode, und wenn ich ein konstantes Potential erhalte, ersetze ich sie durch die andere. Das neue Potential darf nur um einige Zehntel Millivolt von dem ersten abweichen, doch entsteht selten dadurch ein Fehler.

Als Mittelflüssigkeit zwischen der Vergleichs- und Untersuchungselektrode genügt es, bei Blutbestimmungen eine gesättigte KCl-Lösung anzuwenden.

Zur Herstellung der Untersuchungselektrode benützt man verschiedene Verfahren, die man nach Sörensen in 3 Klassen von Methoden einteilen kann: die Methode der strömenden

[1]) Sörensen, Ergebn. d. Physiol. 12, 393, 1912.

[2]) Manabe und Matula, l. c.

[3]) Michaelis und Davidoff, diese Zeitschr. 46, 131, 1912. — Michaelis und Rona, ebenda 49, 232, 1913.

Wasserstoffatmosphäre, die Methode der ruhenden Wasserstoffatmosphäre und die Schaukelmethode.

Die einfachste und sicherste ist die erste Methode, doch ist sie bei Flüssigkeiten nicht anwendbar, die wie das Blut und die meisten biologischen Flüssigkeiten freie Kohlensäure enthalten.

Die Methode der ruhenden Wasserstoffatmosphäre eignet sich im allgemeinen auch nicht für die Bestimmung der [H˙] bei dieser Art von Lösungen. Bei Anwendung dieses Verfahrens entweicht die Kohlensäure aus der Flüssigkeit, wenn auch sehr langsam, in die Wasserstoffatmosphäre, bis ein Gleichgewicht hergestellt ist. Dann erst erhält man ein konstantes Potential unter der Voraussetzung, daß in Gegenwart des Wasserstoffs zwischen den drei Phasen Gleichgewicht besteht. Dieses Potential entspricht dann einer sekundär veränderten [H˙].

Hasselbalch[1]) ist es dank seiner sinnreichen Schaukelmethode gelungen, die Schwierigkeiten, die kohlensäurehaltige Flüssigkeiten bieten, zu überwinden. Das Wesentliche dieser bereits allbekannten Methode besteht darin, die zu messende Flüssigkeit in Kontakt mit einer ruhenden Wasserstoffatmosphäre zu bringen und durch Hin- und Herschütteln zu bewirken, daß die Kohlensäure ins Gleichgewicht kommt, was sehr bald erfolgt. Darauf ersetzt man die an Kohlensäure arme Flüssigkeit durch eine neue Portion, und zwar so, daß die frühere Wasserstoffatmosphäre bewahrt wird. Die nunmehr aus der Flüssigkeit ausströmende CO_2-Menge wird von kaum wahrnehmbarer Größe sein; mithin entspricht das bleibende Potential, sobald das Gleichgewicht des Wasserstoffs eintritt, demjenigen der ursprünglichen Flüssigkeit. Auf diese Weise erzielt man auch das Wasserstoffgleichgewicht viel schneller als bei der vorigen Methode. Die Fehlergröße, die bei der Methode der ruhenden Wasserstoffatmosphäre in der Messung der [H˙] des Blutes entsteht, kann man von den ersten Beobachtungen Hasselbalchs an defibriniertem[2]) Rinderblut ableiten. Er erhielt, wenn er die Flüssigkeit bei der Schaukelmethode nicht wechselte, d. h. also bei einer Methode, die derjenigen bei

[1]) Hasselbalch, diese Zeitschr. **30**, 317, 1910; Compt. rend. du Lab. de Carlsberg **10**, H. 1, 1911.

[2]) Hasselbalch, l. c.

ruhender Wasserstoffatmosphäre sehr ähnelte, einen um 26 % geringeren Wert für die Wasserstoffionenkonzentration als bei Wechsel der Lösung, was einem Unterschiede von 0,10 der betreffenden Werte von p_H entspricht.

Tabelle I.

Ergebnisse von 30 Bestimmungen der Wasserstoffionenkonzentration von venösem Färsenblut bei natürlicher CO_2-Tension und 14 bis 20°.

	p_H Schaukelmethode	
	ohne Wechseln	mit Wechseln
Färse 1. Blut v. 3. Sept., defibriniert, unverd.[1] . .	7,67	7,56
„ „ 3. „ „ „ . .	7,73	—
Färse 2. Blut v. 12. Sept., m. Oxalatzusatz, unverd.	7,61	—
„ „ 12. „ „ „ „	7,62	(7,56[3])
„ „ 12. „ „ Hirudinzusatz, „	7,69	7,60
„ „ 12. „ defibriniert, verd.[2] . . .	7,70	7,58
„ „ 12. „ „ „ . . .	7,61	7,55
Färse 3. Blut v. 17. Sept., m. Oxalatzusatz, unverd.	7,72	—
„ „ 17. „ „ „ „	7,67	7,61
„ „ 17. „ defibriniert, verd.	7,68	—
Färse 4. Blut v. 5. Okt., m. Oxalatzusatz, unverd.	7,70	(7,60)
„ „ 5. „ „ Hirudinzusatz, „	7,67	(7,58)
„ „ 5. „ defibriniert, „	7,66	7,59
„ „ 5. „ „ verd.	7,71	7,61
„ „ 5. „ „ „	7,67	(7,59)
Färse 5. Blut v. 11. Okt., m. Oxalatzusatz, unverd.	7,67	(7,62)
„ „ 11. „ „ „ „	7,75	—
„ „ 11. „ defibriniert, „	7,65	7,58
„ „ 11. „ „ verd.	7,63	7,58
Färse 6. Blut v. 18. Okt., m. Oxalatzusatz, unverd.	7,63	(7,59)
„ „ 18. „ „ Hirudinzusatz, verd. .	7,67	(7,64)
„ „ 18. „ defibriniert, unverd. . . .	7,68	7,62
„ „ 18. „ „ verd.	7,65	7,57
Färse 7. Blut v. 23. Okt., m. Oxalatzusatz, verd. .	7,70	7,57
„ „ 23. „ „ „ „ .	7,66	7,57
„ „ 23. „ defibriniert, „ .	7,69	7,59
„ „ 23. „ „ „ .	7,62	7,55
Färse 8. Blut v. 29. Okt., m. Oxalatzusatz, verd. .	7,72	—
„ „ 29. „ defibriniert, „ .	7,68	7,58
„ „ 29. „ „ „ .	7,70	7,62
Mittel . . .	7,67	7,59

Wie aus Tabelle I ersichtlich, erhalte ich als Durchschnittswert für Kälberblut nach der Hasselbalchschen Methode,

[1]) Unverd. = unverdünnt.

[2]) Verd. = verdünnt in wäßriger 85 %iger NaCl-Lösung.

[3]) Die Zahlen in Klammern bedeuten Werte nach einmaliger Erneuerung der Flüssigkeit.

ohne die Flüssigkeit zu wechseln, für $p_{H^{\cdot}} = 7{,}67$, also $[H^{\cdot}] = 0{,}21 \cdot 10^{-7}$, mit Flüssigkeitserneuerung $p_{H^{\cdot}} = 7{,}59$, oder $[H^{\cdot}] = 0{,}26 \cdot 10^{-7}$. Dies bedeutet eine Erhöhung für $[H^{\cdot}]$ um 24% und eine Differenz von 0,08 für die Werte von $p_{H^{\cdot}}$, Ergebnisse, die denjenigen von Hasselbalch sehr nahe kommen.

Dieser Fehler von 24 bis 26%, den die Methode der stehenden Wasserstoffatmosphäre bedingen kann, stellt einen Maximalwert dar, der nur bei den Elektroden anzutreffen ist, die im Verhältnis zum Flüssigkeitsvolumen einen großen Gasraum besitzen (8 resp. 7 ccm in der Apparatur von Hasselbalch und 6 resp. 7 ccm in dem von mir benutzten Gefäß). Der Fehler wird um so kleiner sein, je kleiner verhältnismäßig der Gasraum ist, auch wird er einen um so geringeren Wert haben, je schneller die Konstanz des Potentials sich einstellt.

Michaelis und Rona[1]) haben gezeigt, und Hasselbalch hat es bestätigt, daß man bedeutend schneller ein bleibendes Potential erhält, wenn man die Elektrode kaum in die Flüssigkeit eintaucht, so daß zwischen ihnen nur die geringste Berührung stattfindet. Dies nennt man die „Methode des geringen Eintauchens", die Hasselbalch zu einem integrierenden Bestandteil seines auch diesen Umstand begünstigenden Schaukelverfahrens gemacht hat. Aus diesen Gründen ist es erklärlich, daß Michaelis und Davidoff[2]), die das Schütteln der Elektrode mit dem erwähnten Kunstgriff von Michaelis[3]) verbinden, und die überdies eine Elektrode mit einem Gasinhalt von höchstens 0,6 ccm gegen ein Flüssigkeitsvolumen von 6 ccm benutzen, die Lösung nicht zu erneuern brauchen, um endgültige Werte zu gewinnen. So haben diese Forscher bei Messungen der $[H^{\cdot}]$ eines künstlichen Carbonatgemisches, das betreffend Alkalinität und Kohlensäuregehalt etwa dem Blute entspricht, sowohl nach ihrer eigenen Methodik wie mit der Hasselbalchschen und der colorimetrischen Methode Werte erhalten, die alle gut übereinstimmen.

Einen weiteren Beweis für die Genauigkeit dieser Technik liefert die Tatsache, daß die Autoren für menschliches Venen-

---

[1]) Michaelis und Rona, diese Zeitschr. 18, 317, 1909.

[2]) Michaelis und Davidoff, l. c.

[3]) Michaelis und Rona, diese Zeitschr. 18, 317, 1909. — Michaelis, Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. 5, 1. Teil, S. 500.

blut mit seiner natürlichen Kohlensäuretension dieselben Werte verzeichnet haben wie ich nach der Hasselbalchschen Methode.

Man kann also beide Methoden anwenden. Ich habe der Schaukelmethode den Vorzug gegeben, die, meiner Meinung nach, wenn auch komplizierter als die von Michaelis, doch weniger technische Geschicklichkeit erfordert. Die Michaelissche Methode besitzt ferner, außer der Einfachheit, den Vorteil, daß man mit weniger Blut zu arbeiten braucht. Wenn man aber die H-Ionenkonzentration des Blutes in seiner natürlichen CO_2-Spannung bestimmen will, wie Michaelis es tut, so sehe ich darin keinen besonderen Nutzen. Hat man einmal einen Venenstich gemacht und die Nadel eingeführt, so ist es gleich, ob man 2 ccm Blut, die bei der Michaelisschen Technik nötige Menge, oder 7 ccm entnimmt, die ich bei meinem Verfahren benötige.

Als Untersuchungselektrode habe ich nicht die ursprüngliche Form, die ihr Hasselbalch gegeben, benutzt, sondern die nach Paulis Angaben modifizierte, die einige bemerkenswerte Vorzüge gegenüber der ersteren besitzt[1]). Das Platinieren der Elektrode habe ich nach dem üblichen Verfahren ausgeführt. Bei Benutzung nur nichteiweißhaltiger Lösungen bleibt die platinierte Elektrode oft wochenlang in gutem Zustande, bei Eiweißflüssigkeiten jedoch muß man, namentlich bei andauernden Messungen, die Platinierung regelmäßig alle 2 Tage erneuern. Schon am 3. Tage kann die Elektrode nach meinen Erfahrungen nicht mehr in Ordnung sein, wenn sie Tag und Nacht zu Untersuchungen mit solchen Flüssigkeiten benutzt wird. In diesem Falle empfiehlt es sich, sofort die Platinierung zu erneuern, denn die dazu erforderliche Zeit, im Vergleich zu dem Zeitverlust, der durch mangelhaftes Arbeiten der Elektrode entsteht, ist bedeutend kürzer. — Ich habe wahrnehmen können, daß das in Fäulnis übergehende Blut die Elektrode schädigt, vielleicht ist der sich entwickelnde Schwefelwasserstoff die Ursache davon.

Den Wasserstoff für die Elektrode erzeuge ich durch Einwirkung von KOH auf das Aluminium — die beste Art, ihn ganz rein zu erhalten. Trotz gewisser Empfehlung ist dem Gebrauch eines Kippschen Apparates bei dieser Reaktion zu widerraten, schon aus dem Grunde, weil sich dabei eine solch außerordentliche Hitze bildet, daß der Apparat leicht in Stücke gehen kann. Ich habe ganz einfach zur Wasserstofferzeugung ein Reagensglas mit einer KOH-Lösung benutzt, das mit einem Kork, durch dessen Bohrung ein Gasentbindungsrohr und ein Glasstäbchen gehen, verschlossen ist. Am unteren Ende des letzteren befestige ich eine Aluminiumlamelle von solcher Größe, daß sie in das

---

[1]) Manabe und Matula, l. c.

Reagensglas hineingeht, ohne von der KOH benetzt zu werden. Durch mehr oder weniger Senken des Glasstäbchens kann man leicht die Ein wirkungsfläche verändern und auf diese Weise die Gasentbindung regeln.

Die Einwirkung des Kaliums auf das Aluminium erzeugt große Hitze, die ihrerseits auf die Reaktion fördernd einwirkt. Mit konzentrierter Kalilauge verläuft die Reaktion stürmisch, die Flüssigkeit erwärmt sich derart, daß sie sofort zu kochen beginnt.

Zur Regelung der Wasserstoffbildung muß verdünnte Kalilauge benutzt werden, doch würde dann die Reaktion, bei gewöhnlicher Temperatur, nur sehr langsam von statten gehen. Um schnell einen H_2-Strom zu erhalten, gieße ich zu Anfang des Versuchs, um die Reaktion in Gang zu setzen, etwas Aluminiumschrot auf das Kalium. Nach und nach bedeckt sich die Aluminiumlamelle mit einer Schicht von Aluminat, die den Angriff der KOH auf das Aluminium verhindert. Es ist zu beachten, daß sie von Zeit zu Zeit entfernt werden muß. Der so erzeugte Wasserstoff wird mit destilliertem Wasser ausgewaschen, dann läßt man ihn durch trockne Watte passieren, die das ganze in flüssigem Zustande mitgerissene Wasser zurückhält.

Nachdem die Elektrode platiniert und in ihr Gefäß gestellt ist, leitet man durch letzteres $^1/_2$ Stunde lang einen Wasserstoffstrom hindurch und bringt in das Gefäß die Flüssigkeit, deren [H˙] bestimmt werden soll, und zwar so, daß sie die Platinschicht kaum berührt.

Zur Einbringung der Flüssigkeit (Blut oder Serum) in die Elektrode unter Vermeidung der Berührung mit Luft und eines möglichen Kohlensäureverlustes benutze ich eine Luersche Spritze, an die ein mit einer Klemme für konstanten Druck verschlossenes Gummirohr angebracht ist. Ist die Flüssigkeit in die Elektrode eingefüllt, so wird diese geschüttelt. Ich bewirke diese Bewegung, die nicht nur aus Bequemlichkeitsgründen mechanisch erfolgen soll, sondern auch um die Gefahr des Zerbrechens des Gefäßes zu vermindern, mittels eines in der Koehlerschen Werkstatt in Leipzig hergestellten Schüttelapparates, der mit einigen unbedeutenden Abänderungen leicht für unsere Zwecke brauchbar ist. Das ganze System wird durch eine kleine Turbine in Bewegung gesetzt. 80 Umdrehungen in der Minute ist die Schnelligkeit, die ich immer anwende. Größere Schnelligkeit erschwert oder verhindert sogar durch die sich entwickelnde Zentrifugalkraft das Vermischen des Gases mit der Flüssigkeit.

Nach 2 bis 3 Minuten langem Schütteln setzt man die Gaskette mit dieser und der Quecksilberkalomelelektrode zu-

sammen und mißt ihr Potential. Dann wird die Elektrode aus dem Kreislauf ausgeschaltet, wieder 2 bis 3 Minuten geschüttelt und das Potential der Kette wiederum abgelesen. So wird fortgefahren, bis drei aufeinanderfolgende Bestimmungen Werte liefern, die nicht mehr voneinander abweichen, als es die Genauigkeit der Methode zuläßt. Im allgemeinen erhält man schon nach den ersten 2 oder 3 Schaukelminuten ein endgültiges Potential. Hierauf erneuert man, ohne die Wasserstoffatmosphäre zu bewegen, die Flüssigkeit, schüttelt die Elektrode 2 bis 3 Minuten und mißt wie vorher das Potential des Elementes. Dieses Potential wird bei CO_2-haltigen Lösungen niedriger als das zuerst erhaltene sein. Soll dieser Wert ein definitiver sein, so müssen, wie oben, noch zwei Messungen nach vorhergehendem Schütteln vorgenommen werden, deren Ergebnisse mit dem dritten übereinstimmen.

Nach Ansicht von Hasselbalch und Sörensen kommt der Wert dieses Potentials dem wirklichen Wert so nahe, daß eine Erneuerung der Flüssigkeit keinen wesentlichen Einfluß auf das Potential ausüben würde. In neueren elektrometrischen Messungen der [H˙] von Meerwasser hat Hasselbalch[1]) beobachtet, daß zur Ermittelung eines konstanten Gleichgewichts die Lösung 4 bis 5 mal gewechselt werden muß. Bei jeder dieser Erneuerungen sinkt das Potential immer ein wenig. Ohne den Grund dieser Erscheinung näher auseinanderzusetzen, scheint der Verfasser sie dem Umstande zuzuschreiben, daß das Meerwasser sehr arm an Puffergemischen ist. Bei nicht verdünntem Blut sei nur eine Erneuerung nötig, da in diesem die Puffer sehr reichlich vorhanden seien.

Ähnliches wie beim Meerwasser habe ich nicht nur bei verdünntem, sondern auch bei unverdünntem Blut und bei Serum beobachten können. Wie aus Tabelle II erhellt, nimmt das Potential nach jeder Flüssigkeitserneuerung ab. Im Gegensatz aber zu den Werten beim Meerwasser bewegt sich der Unterschied in dem Potential der aufeinanderfolgenden neuen Portionen (der zweite Fall ausgenommen) innerhalb der Fehlergrenze der Methode. Es ist das die Frage, ob wir es mit einer Änderung der [H˙] der zu messenden Flüssigkeit zu

[1]) Hasselbalch, diese Zeitschr. 49, 451, 1913.

Tabelle II.

	Ohne Flüssigkeits-erneuerung p_{H}	Erste Erneuerung p_{H}	Zweite Erneuerung p_{H}	Dritte Erneuerung p_{H}
Blut vom 5. Okt., defibriniert, unverdünnt	7,66	7,62	7,58	7,56
„ „ 5. „ „ verdünnt [1])	7,67	7,59	7,51(!)	7,49
„ „ 5. „ „ „	7,71	7,63	7,60	—
„ „ 5. „ Serum	7,73	7,65	7,60	—
„ „ 5. „ andere Probe	7,68	7,61	7,56	—
„ „ 11. „ defibriniert, verdünnt .	7,63	7,60	7,57	7,56
„ „ 28. „ m. Oxalatzusatz, „	7,70	7,58	7,57	—
„ „ 28. „ „ „ „	7,66	7,59	7,55	—

tun haben, die dadurch bedingt wird, daß die Kohlensäure in der Elektrodenatmosphäre bei der ersten Flüssigkeitsmessung noch nicht die ursprüngliche Spannung wieder erreicht hat, oder ob die Fehler bei dieser Methode sich alle in einem Sinne summieren. Die Ursache kann ich mir nicht erklären. Das einzige, was ich in diesem Punkt sagen kann, ist, daß dies nicht, wie man wohl zu glauben geneigt wäre, auf Wasserstoffverlusten bei dem sukzessiven Flüssigkeitswechsel beruht. Denn mißt man die Standard-Acetatlösung von Michaelis, so erhält man Konstanz des Potentials auch bei dreifacher Erneuerung der Lösung. Wechselt man sie noch öfter, so schwankt manchmal das Potential, denn der Wasserstoff kann bei so langdauernden Messungen aus der Elektrode entweichen. Daraus folgt, daß die EMK, die man nach einmaliger Erneuerung erhält, genügend genau ist, daß es aber empfehlenswert erscheint, zweimal die Lösung zu erneuern, um noch zuverlässigere Resultate zu erzielen und als endgültiges Potential das arithmetische Mittel der beiden Werte zu nehmen[2]). (Die dritte Erneuerung bewirkt, wie aus der Tabelle zu ersehen ist, nur einen ganz geringen Unterschied.)

Die Untersuchungselektrode muß von Zeit zu Zeit geprüft werden, ob sie auch ganz genaue Resultate liefert. Die bequemste Kontrollmethode besteht darin, mittels dieser Elektrode die [H˙] eines dieser sog. Puffergemische, die bei der colorimetrischen Methode (Sörensen) verwendet werden, zu messen. Ich habe die Standard-Acetatmischung

[1]) Verdünnt in 85 %iger NaCl-Lösung.

[2]) Als Beispiel führe ich im Anhang zwei Messungen der [H˙] von Blut und Serum aus meinem Protokoll an.

von Michaelis benutzt, deren $p_{H^{\cdot}}$, nach dem Verfahren der strömenden Wasserstoffatmosphäre mit der Ostwald-Dolezalekschen Elektrode bestimmt, gleich 4,619 ergab, eine Zahl, die innerhalb der Fehlergrenze dieser Methode liegt und die ich auch mit der gut funktionierenden Hasselbalchschen Elektrode erziele.

Die Wasserstoffionenkonzentrationsbestimmungen des Blutes müßten bei Körpertemperatur ausgeführt werden, da uns die Werte doch bei dieser Temperatur am meisten interessieren. Zu diesem Zweck wäre die von Hasselbalch empfohlene Versuchsanordnung nötig gewesen, die aber sehr kostspielig und umständlich ist. Andererseits haben Michaelis und Davidoff bei an menschlichem Blute ausgeführten Messungen gefunden (in 9 Fällen), daß die [H˙] von Blut bei 37,5° eine wenn auch geringe, so doch merkliche Erhöhung gegenüber derjenigen bei 18 bis 22° aufweist. Der Wert von $p_{H^{\cdot}}$ ist bei dieser Temperatur im Durchschnitt um 0,21 kleiner als bei 18 bis 22°, ein Unterschied, der in den verschiedenen Fällen immer nur in den Fehlergrenzen schwankte. Das Blutserum und die Exsudate verhalten sich ebenso[1]). Folglich könnte man auf diese Weise den Wert von $p_{H^{\cdot}}$ von Blut oder Serum bei 37,5° leicht ermitteln, wenn man denjenigen bei 18 bis 22° kennt, und umgekehrt. Als Stütze dieses Befundes kann auch der kürzlich veröffentlichte Versuch von Hasselbalch angeführt werden, der bei Menschenblut einen um 0,17 kleineren Wert für $p_{H^{\cdot}}$ bei 37° erhielt als bei 18°.

All diesen Tatsachen Rechnung tragend, habe ich kein Bedenken gehabt, meine Messungen bei Zimmertemperatur durchzuführen. Da das Klima unseres Landes recht schwankend ist, waren die Temperaturen während meiner zahlreichen Untersuchungen entsprechend verschieden. Ich verfahre nun so, daß ich die Temperatur der Mittelflüssigkeit, nachdem ein konstantes Potential ermittelt ist, mit einem in Zehntelgrade eingeteilten Thermometer messe; es genügt jedoch eine Genauigkeit von $\pm$ 0,25°. Aus Tabelle III geht hervor, daß die Werte für

---

[1]) Diese Autoren nehmen an, daß Blut bei 18 bis 22° dieselbe [H˙] besitzt. Sie teilen zwar nicht mit, daß sie diesbezügliche Messungen an einer Blutprobe gemacht haben, doch beweisen sie es auf indirekte Weise: die [H˙] des Blutes von verschiedenen normalen Individuen, die in diesem Temperaturbereich gemessen worden ist, weist Schwankungen derselben Ordnung auf, wie sie die Verfasser bei 18° beobachtet haben.

Tabelle III.

Wasserstoffionenkonzentration von Venenblut einer Färse, bei natürlicher CO_2-Tension gemessen. (Zusammenfassung von Tabelle I.)

	$p_{H^{\cdot}}$ Mittel[1])	Ungefähre Temperatur, bei der die Bestimmungen ausgeführt[2]) °C
Färse 1. Blut vom 3. Sept. 1913 . . .	7,56	20
„ 2. „ „ 12. „ „ . . .	7,57	19
„ 3. „ „ 17. „ „ . . .	7,61	17
„ 4. „ „ 5. Okt. „ . . .	7,59	16
„ 5. „ „ 11. „ „ . . .	7,59	16
„ 6. „ „ 18. „ „ . . .	7,60	15
„ 7. „ „ 23. „ „ . . .	7,57	15
„ 8. „ „ 29. „ „ . . .	7,60	14
Mittel	7,59	

$p_{H^{\cdot}}$ von verschiedenem Färsenblut Unterschiede aufweisen, die in den Bereich der Fehlergrenzen der Methode fallen, obgleich sie bei ganz verschiedenen Wärmegraden (14 bis 20°) ermittelt worden sind.

Man kann wohl daraus meines Erachtens den Schluß ziehen, daß der Wert von $p_{H^{\cdot}}$ in diesem Temperaturintervall sich nicht verändert, und zwar aus Gründen, die den oben erwähnten analog sind. Ziehen wir von dem Mittelwert von $p_{H^{\cdot}}$ 0,21 ab, so erhalten wir:

$$p_{H^{\cdot}} = 7,59 - 0,21 = 7,38,$$

einen Wert, der, wie wir sehen werden, vorzüglich mit dem von Hasselbalch und Lundsgaard bei 38° und bei etwa vergleichbaren Bedingungen gefundenen übereinstimmt. Für das Färsenblut wäre also indirekt dasselbe bewiesen, was Michaelis und Davidoff für Menschenblut behauptet haben.

In den drei Messungen der [H˙], die ich an normalem Menschenblut bei 14° angestellt habe, erhielt ich Werte für $p_{H^{\cdot}}$, die gut mit den von Michaelis und Davidoff bei 18° ermittelten harmonieren. Es ist mithin wohl erlaubt, die Behauptung aufzustellen, daß zwischen 14 und 22° die [H˙] des Blutes sich nicht ändert, und daß sie bei 37,5° im Mittel um 0,21 niedriger ist als bei 18°. Die [OH'] dagegen muß er-

[1]) Arithmetisches Mittel der Werte $p_{H^{\cdot}}$, die bei den in Tab. I verzeichneten Bestimmungen des Blutes jeder Färse gefunden wurden.

[2]) Diese Temperatur ist ungefähr das arithmetische Mittel der verschiedenen Wärmegrade, die bei jeder Blutbestimmung des einzelnen Tieres gemessen wurden.

heblichen Schwankungen unterliegen, da die Dissoziationskonstante des Wassers in diesem Temperaturbereich wesentliche Veränderungen erleidet[1]). Daraus folgt, daß, obgleich man die [OH˙] des Blutes ebenso genau wie seine [H˙] messen könnte, es doch viel ratsamer ist, letztere zu ermitteln, da die [OH˙]-Werte nur von gleichen Temperaturen untereinander vergleichbar sind.

II.

Die wahre Reaktion des Blutes wird naturgemäß durch seine Konzentration an freier Kohlensäure und folglich durch die Kohlensäurespannung, die ein Maß dieser Konzentration sein kann, beeinflußt. Die CO_2-Tension ist eine Größe, die selbst bei normalen Menschen, je nachdem das Blut arterielles oder venöses ist, schwankt; überdies verändert sie sich im letzteren Falle je nach dem Modus der Lungenventilation und der Intensität der Kohlensäureerzeugung. Um sicherzustellen, ob die [H˙] des Blutes als ein feststehender Wert anzusehen ist, oder ob diese Konzentration eine veränderliche Größe ist, handelt es sich also in erster Linie darum, den Konzentrationsgrad zu ermitteln, bei dem diese Spannung einen Einfluß auf die Reaktion ausübt.

Hasselbalch und Lundsgaard haben an defibriniertem Rinderblut bei 38,5° diesen Einfluß der CO_2-Spannung auf die wahre Reaktion untersucht[2]). Aus ihren Studien geht hervor, daß sogar eine ganz geringe Steigerung der Kohlensäurespannung des Blutes (10 mm Hg) eine Verringerung von p_H. des Blutes bewirkt, d. h. eine leicht meßbare Erhöhung von [H˙]. Einer Zunahme von 20 mm Hg — und um so viel ungefähr steigt die Kohlensäurespannung im Blute der großen Warmblüter während eines Kreislaufs — würde eine Abnahme von 0,14 des Durchschnittswertes von p_H. entsprechen oder gleichbedeutend sein mit einem Anwachsen von etwa 36% in der H-Ionenkonzentration des Blutes.

Im Hinblick auf diese Ergebnisse glauben Hasselbalch und Lundsgaard, daß die wahre Reaktion des menschlichen Blutes in der Tat eine variable Größe ist. Um diese Reaktion unabhängig von den möglichen Schwankungen der Kohlensäuretension zu bestimmen, messen sie die [H˙] des Blutes unter Nichtbeachtung seiner natürlichen CO_2-Tension, nachdem sie auf experimentellem Wege eine genau festgelegte und willkürlich gewählte Kohlensäurespannung hergestellt haben. Gewöhnlich führen sie die elektrometrische Messung des Blutes bei 40 mm Hg

[1]) Die Dissoziationskonstante des Wassers ist: $0{,}46 \cdot 10^{-14}$ bei 15°; $0{,}76 \cdot 10^{-14}$ bei 20°; $1{,}05\ 10^{-14}$ bei 25° (Lundén).

[2]) Hasselbalch und Lundsgaard, diese Zeitschr. 38, 77, 1912.

aus, was ungefähr die Durchschnittsspannung an Kohlensäure im Venenblut sein dürfte.

Dieses Verfahren ist keineswegs bequem und hat überdies den bedenklichen Übelstand, daß die damit erzielten Resultate in den verschiedenen Fällen einen Vergleich ausschließen, mit anderen Worten nur dann als Maß der Reaktion des Blutes dienen könnten, wenn die verschiedenen Werte der Kohlensäurespannung von den zu vergleichenden Blutproben in denselben Grenzen schwanken würden. Wenn diese Annahme auch bei normalen Personen zulässig ist, so muß sie doch in pathologischen Fällen erst vorher bewiesen werden. Bei der Acidosis z. B., wo man die Verhältnisse der Kohlensäurespannung am besten studiert hat und die uns in bezug auf die Reaktion des Blutes am meisten interessiert, steht fest, daß die CO_2-Tensionen im Blute niedriger als im normalen Falle sind [1].

Wir nehmen, wie die Mehrzahl der Autoren, an, daß die Erniedrigung der CO_2-Spannung im Blute durch eine Steigerung der wirklichen Acidität, die auf nicht flüchtigen Säuren beruht, bedingt wird. Erhalten wir also bei der Reaktionsbestimmung des Blutes bei 40 mm Hg viel saurere Werte als unter denselben Bedingungen bei normalen Menschen, so werden wir sicherlich die erhöhte Acidität als von nicht flüchtigen Säuren herrührend deuten. Mit diesem zwar sehr wichtigen Befunde haben wir aber nicht die Reaktion des Blutes ermittelt, das in diesen Fällen ebenso sauer oder weniger sauer als das normale sein kann, wenn seine CO_2-Tension niedriger als in normalem Zustande ist. Dieses Verfahren wäre daher für Blutuntersuchungen von gesunden Menschen gut anwendbar. Da aber die Ausschläge der Kohlensäurespannung im arteriellen wie im venösen Blut bei normalen Menschen und in der Ruhe äußerst klein sind, so kann man die Reaktion des Blutes unbedenklich bei seiner natürlichen CO_2-Spannung messen. Ich glaube, daß man dann für Venenblut (das immer aus derselben Vene stammt [2]) von verschiedenen Versuchspersonen vollkommen vergleichbare Werte erhält. Dasselbe trifft auch für arterielles Blut von verschiedenen Menschen zu.

[1]) Douglas, V. Ergebn. d. Physiol. **14**, 338, 1914.

[2]) Man muß das Venenblut immer aus derselben Vene entnehmen, da seine Kohlensäurespannung in den verschiedenen Körpergebieten, selbst in der Ruhe, nie ganz dieselbe ist.

Um mich dieser Tatsache zu vergewissern, habe ich, da Hasselbalch und Lundsgaard die H-Ionenkonzentration von Rinderblut bei einer CO_2-Spannung von 40 mm Hg gemessen haben, was ungefähr der Durchschnittsspannung von Venenblut entspricht, die Reaktion von Venenblut aus der äußeren Jugularis von gesunden, ruhenden Färsen bei der natürlichen Kohlensäuretension bestimmt. In der Tat weichen die erhaltenen Resultate nur wenig von einander ab und stimmen sehr gut mit den von Hasselbalch und Lundsgaard unter den oben beschriebenen Bedingungen ermittelten überein.

Neuerdings schlägt Hasselbalch [1]) vor, bei der Messung der $[H^{\cdot}]$ von menschlichem Blut dieses mit der Ausatmungsluft derselben Versuchsperson zu vermischen, dann die H-Ionenkonzentration dieses Blutes und die CO_2-Tension dieser Luft zu bestimmen. Die so erhaltene $[H^{\cdot}]$ wird einen modifizierten Wert, doch in geringerem Grade als bei dem ersten Verfahren darstellen, denn einer Erhöhung oder Erniedrigung der CO_2-Spannung von venösem Blut muß eine Veränderung in demselben Sinne der CO_2-Tension der ausgeatmeten Luft entsprechen. Aber selbst wenn wir die $[H^{\cdot}]$ bei der Kohlensäurespannung der Alveolarluft messen würden, d. h. mit einer Luft, die sich im Spannungsgleichgewicht mit dem Blute des rechten Herzens befindet, so würden wir nur bei normalen Menschen sicher die H-Ionenkonzentration des Venenblutes bei seiner natürlichen Kohlensäurespannung ermitteln. Die Untersuchungen von Siebeck [2]) haben gelehrt, daß es in der Tat pathologische Zustände gibt, wo die CO_2-Tension in der Alveolarluft der ganzen Lunge nicht die gleiche ist. Bis wir nicht genau wissen, in welchen Fällen eine homogene Zusammensetzung der Alveolarluft besteht, kann man mit dem Hasselbalchschen Verfahren die natürliche $[H^{\cdot}]$ des Venenblutes in Krankheitszuständen nicht zuverlässig bestimmen. Und im gesunden Zustande ist dies, wie wir gesehen haben, gar nicht nötig.

Bei der Entnahme des Kälberblutes bin ich folgendermaßen verfahren: das Tier wird gefesselt, ohne daß eine Stauung im Kreislauf eintritt, und die äußere Jugularvene bloßgelegt. Wenn das Tier ruhig geworden ist, führt man in die Vene ein Nocardsches Troikard ein, befestigt einen Gummischlauch an die Kanüle und läßt ein wenig Blut ausfließen. Dann taucht man den Schlauch tief in das Gefäß ein, in dem das Blut gesammelt werden soll, läßt das Blut ausströmen, bis das ganze Gefäß voll ist und sogar etwas darüber; dann wird die Flasche sorgfältig verschlossen. Auf diese Weise erhält man nicht die Blutportion, die durch unmittelbare Berührung mit der Luft, sei es im Schlauch oder im Gefäß, Kohlensäure verloren haben könnte. Zur Messung der H-Ionenkonzentration des Blutes entnimmt man dieses aus dem Ge-

[1]) Hasselbalch, diese Zeitschr. 49, 451, 1913.

[2]) Siebeck, Arch. f. klin. Med. 107, 252.

faß mittels einer Luerschen Spritze und taucht deren Gummischlauch ganz tief ein, um nicht die obere Schicht zu bekommen. Beim Menschen habe ich das Blut aus der Armbeuge entnommen und dafür gesorgt, daß keine Luft eindrang. Dies erreicht man, indem man die ganze Nadel in die Venenöffnung einführt. Bei der Punktion mit der Nadel muß jede Blutstauung vermieden werden, damit keine Veränderung in der CO_2-Tension eintritt.

Um die sehr lästige Gerinnung des Blutes zu umgehen, ist vielfach der Hirudinzusatz empfohlen worden (1 mg Pulver auf 5 ccm Blut). Das Hirudin selber kann keine merkliche Veränderung in der $[H^{\cdot}]$ bewirken und ist sehr bequem im Gebrauch. Der einzige Übelstand, der ihm anhaftet, ist sein hoher Preis. Aus diesem Grunde habe ich in einigen Fällen ein anderes Antikoagulans, das neutrale Kaliumoxalat, angewendet. A priori scheint dies Mittel kein zweckmäßiges zu sein, denn durch die Hinzufügung dieses Salzes wird das elektrolytische Gleichgewicht des Blutes gestört, so daß es nicht erstaunlich wäre, wenn es auch eine Modifikation in der $[H^{\cdot}]$ verursachen würde. Dies ist jedoch nicht der Fall; aus meinen wenigen, aber sehr gut übereinstimmenden Beobachtungen geht hervor, daß das hirudinierte Blut dieselbe H-Ionenkonzentration aufweist wie das mit Oxalatzusatz und das defibrinierte.

Bei dem Färsenblut habe ich das feste Salz benutzt; ich habe das nötige Quantum Oxalat in der kleinstmöglichen Menge kochenden destillierten Wassers aufgelöst und die Lösung in das zum Auffangen des Blutes bestimmte Gefäß gegossen. Nachdem die Wände des Gefäßes mit der Flüssigkeit gut befeuchtet sind, entferne ich das Wasser durch Evakuieren. Auf diese Weise setzt sich das Salz in dünner Schicht auf das Innere der Flasche ab, so daß sich das Blut rasch damit vermischt.

Das Kaliumoxalat muß dem Blute im Verhältnis von 2,5 : 1000 zugesetzt werden, dann tritt sicher nie Koagulation ein; bei 1 : 1000, wie es Arthus und Pagès[1]) vorschreiben, ist es doch manchmal der Fall.

Man kann auch mit dem defibrinierten Blut arbeiten, da bewiesen worden ist, daß es dieselbe Reaktion wie das mit Hirudin versetzte hat.

Ich defibriniere das Blut, indem ich es in einer Glasperlen enthaltenden Flasche auffange und sie tüchtig schüttele, nachdem sie mit Blut ganz angefüllt ist.

Wird das Blut nicht vollständig inkoagulabel gemacht, so

[1]) Arthus und Pagès, Arch. d. Physiol. 22, 739, 1890.

kann sich ein Teil des Fibrins auf der Elektrode ablagern, was nach Michaelis und Davidoff in den meisten Fällen, nicht immer, einen sehr ausgesprochenen Abfall des Potentialwertes zur Folge hat. Erhält man aber einmal ein bleibendes Potential, so ist der Wert sehr sauer. In Versuchen, wo sich sogar eine dicke Ablagerung von Fibrin auf der Elektrode gebildet hatte, habe ich dagegen genaue Resultate beobachtet; nur in einigen Fällen fand ein andauerndes Sinken des Potentials statt, und da war die Möglichkeit, daß etwas Wasserstoff entwich, nicht ganz ausgeschlossen. Diese Fehlerquelle muß auf jede Weise vermieden werden.

In Tabelle IV sind die Werte vergleichsweise zusammengestellt, die bei Blut mit Oxalatzusatz, mit Hirudinzusatz und bei defibriniertem Blut erzielt worden sind.

Tabelle IV.

Vergleich zwischen der H-Ionenkonzentration von Blut mit Oxalatzusatz, mit Hirudinzusatz und defibriniertem Blut, in verdünntem und unverdünntem Zustande.

	Unverdünnt p_H.	Verdünnt mit 85 %iger NaCl-Lösung p_H.
Färse 2. Blut vom 12. Sept. 1913.		
Mit Oxalatzusatz	7,56	—
„ Hirudinzusatz	7,60	—
Defibriniert	—	7,58; 7,55
Färse 4. Blut vom 5. Okt. 1913.		
Mit Oxalatzusatz	7,60	—
„ Hirudinzusatz	7,58	—
Defibriniert	7,59	7,61; 7,59
Färse 5. Blut vom 11. Okt. 1913.		
Mit Oxalatzusatz	7,62	—
Defibriniert	7,58	7,58
Färse 6. Blut vom 18. Okt. 1913.		
Mit Oxalatzusatz	7,59	—
„ Hirudinzusatz	—	7,64
Defibriniert	7,62	7,57
Färse 7. Blut vom 23. Okt. 1913.		
Mit Oxalatzusatz	—	7,57; 7,57
Defibriniert	—	7,59; 7,55

Hasselbalch weist neuerdings[1]) auf eine weitere Schwierigkeit in der elektrometrischen Bestimmung der Blutreaktion hin.

[1]) Hasselbalch, diese Zeitschr. 49, 451, 1913.

Flüssigkeiten, die, wie das Blut, große Mengen von schwach gebundenem Sauerstoff enthalten, geben erst dann ein konstantes Potential, wenn die in Berührung mit der Elektrodenplatte befindlichen Flüssigkeitsschichten vollständig reduziert sind. Taucht man die Elektrode 1 bis 2 mm oder mehr in das Blut ein, so stellt sich die Reaktion nur sehr langsam ein; bei schnellem Arbeiten erhält man stets saure Werte. Hasselbalch glaubt, daß dies den Unterschied zwischen seinen und den von Lundsgaard bei menschlichem Blut ermittelten niedrigeren Werten des p_H. bedinge. Achtet man aber streng darauf, daß die Berührung zwischen der Elektrode und dem Blute nur eine äußerst geringe ist, so erhält man nach Hasselbalchs Angabe sehr bald, nach 400 bis 800 Drehungen des Gefäßes, ein konstantes Potential, das stundenlang unverändert bleibt und demjenigen gleicht, das nach der Reduktion der ganzen Blutportion sich einstellt. Die Kombination der Schaukelmethode mit der des geringen Eintauchens, wie ich sie angewandt und beschrieben habe, ermöglicht es nach Ansicht des Verfassers, schnelle und zuverlässige Blutmessungen auszuführen.

Will man die Elektrode tief in das Blut einführen, was jedoch keinerlei Vorteil bietet, so muß das Blut vollständig reduziert werden. Hasselbalch erzielt dies durch passende Veränderung seiner Elektrode, so daß die Platinschicht während des permanenten Schaukelns gänzlich vom Blut überspült wird. Unter Befolgung dieser Technik dauert eine Messung $1^1/_2$ bis 2 Stunden.

Meine Beobachtungen mit knappem Eintauchen der Elektrode bestätigen die Angaben Hasselbalchs. Nach 2 bis 3 Minuten Schaukeln, entsprechend ungefähr 300 bis 500 Umdrehungen in der Versuchsanordnung dieses Verfassers, erzielt man Konstanz des Potentials unter Berücksichtigung der Verläßlichkeit der Methode. Ich konnte mich davon in einigen Versuchen bei Verlängerung des Schaukelns überzeugen, ebenso in anderen, wo das Potential einige Stunden, nachdem das Schütteln aufgehört hatte, abgelesen wurde: immer blieb das einige Minuten nach dem Schaukeln erhaltene Gleichgewicht konstant. Die hier dargestellte Technik ist also bei Serum wie bei ungeronnenem Blut gleich anwendbar. Wurde die Elektrode 1 oder 2 mm in das Blut getaucht, so habe ich

mehrere Male beobachten können, daß nach jeder Schüttelperiode das Potential fällt und nachher in der Ruhe wieder steigt, so daß man erst nach langdauerndem Schaukeln einen endgültigen Wert erzielt.

Konikoff[1]), der fast gleichzeitig mit Hasselbalch diesen Einfluß des Sauerstoffs untersucht hat, bemerkt ebenfalls ein Absinken des Potentials nach jedem Schaukeln und ein Ansteigen in der Ruhepause. Der Potentialwert wird bleibend, sobald das ganze Oxyhämoglobin reduziert ist. Der Verfasser gibt nicht an, wie weit er die Elektrode in das Blut taucht. Er schreibt der Bewegung der Elektrode zwecks Beschleunigung des Reduktionsprozesses des Oxyhämoglobins eine solche Bedeutung zu, daß er darin die größere Genauigkeit der Hasselbalchschen Methode begründet glaubt und nicht in ihrer Einwirkung auf die Kohlensäure.

Ohne uns so weit dieser Meinung anzuschließen, so ist nicht daran zu zweifeln, daß das Schaukeln den durch den Sauerstoff des Blutes bedingten Fehler korrigiert. Auch in diesem Punkt ist die Hasselbalchsche Methode derjenigen mit stehender Wasserstoffatmosphäre überlegen und namentlich den Verfahren, die den Kunstgriff des knappen Eintauchens von Michaelis und Rona noch nicht benutzten.

Michaelis und Davidoff behaupten, daß Blut, das mit einer wäßrigen CO_2-freien 0,85 $^0/_0$igen Lösung von ClNa verdünnt wird, dieselbe H-Ionenkonzentration aufweist, wie nicht verdünntes. Diese theoretisch sehr einleuchtende Tatsache ist von den Autoren experimentell restlos bewiesen und von mir bestätigt worden. Michaelis und Davidoff verdünnen das Blut auf sein 5faches Volumen; ich verdünne es nur auf die Hälfte oder ein Drittel, um die Schwierigkeiten zu vermeiden, die Hasselbalch mit seiner Methode bei an Puffern armen Flüssigkeiten entgegengetreten sind. In Tabelle IV sind die Ergebnisse von Messungen mit so verdünntem Blut im Vergleich zu unverdünntem zu ersehen. Das nichtverdünnte Blut ist immer innerhalb 24 Stunden nach seiner Entnahme gemessen worden. Am verdünnten Blut ist die Messung manchmal innerhalb 24 Stunden, einige Male 2 bis 3 Tage nachdem es entnommen worden war [2]), ausgeführt worden. Wie ersicht-

[1]) Konikoff, diese Zeitschr. 51, 200, 1913.

[2]) Das nichtverdünnte Blut wird 24 Stunden nach seiner Entnahme, namentlich bei Messungen bei 38° (Michaelis und Davidoff), etwas saurer. In verdünntem Blut ist diese Veränderung nicht nachweisbar.

lich, hat die $[H^{\cdot}]$ durch die Verdünnung keine Veränderung erlitten.

Bei meinen Messungen der $[H^{\cdot}]$ an menschlichem Blut habe ich, unter Berücksichtigung dieser Umstände, 7 ccm Blut in 13 ccm CO_2-freier, 85%iger ClNa-Lösung verdünnt, die 2,5‰ neutrales Kaliumoxalat in Lösung enthielt. Die 20 ccm Mischung genügen zur zweifachen Erneuerung der Elektrodenflüssigkeit.

Als Zusammenfassung meiner Feststellungen will ich meine Ergebnisse mit denjenigen anderer Untersucher vergleichen, die nach den genauesten Methoden, derjenigen von Hasselbalch und der letztausgearbeiteten von Michaelis, gewonnen worden sind.

Hasselbalch und Lundsgaard[1]) finden bei defibriniertem Ochsenblut bei 38,5° und 40 mm CO_2-Spannung als Mittelwert von $p_{H^{\cdot}}$:

$$p_{H^{\cdot}} = 7{,}36, \quad \text{mithin} \quad [H^{\cdot}] = 0{,}44 \cdot 10^{-7}.$$

Diese Forscher beobachten kleine, aber gut wahrnehmbare Unterschiede in den Werten der $[H^{\cdot}]$ bei verschiedenen Individuen. Diese Abweichungen werden teilweise auf die mehr oder weniger große Zahl der Blutkörperchen in jedem einzelnen Falle zurückgeführt, denn es ist erwiesen, daß die roten Blutkörperchen eine saurere Reaktion ergeben als das Gesamtblut.

Meine Versuchsobjekte waren 8 ungefähr 12 Monate alte Färsen. Die Messungen wurden an in vivo entnommenem Venenblut mit einer natürlichen CO_2-Tension, das in verschiedener Weise ungerinnbar gemacht wurde, in verdünntem und unverdünntem Zustande, bei den Temperaturen zwischen 14 und 20° angestellt (worüber Tabelle I näher unterrichtet). Aus der Reihe von Mittelwerten von $p_{H^{\cdot}}$ des Blutes jeder Färse, die auf Tabelle III verzeichnet sind, erhält man für Färsenblut bei 14 bis 22°

$$p_{H^{\cdot}} = 7{,}59 \quad \text{oder} \quad [H^{\cdot}] = 0{,}26 \cdot 10^{-7}.$$

Seine $OH^{\cdot}$-Konzentration wird je nach der Temperatur, wie oben angeführt, eine andere sein müssen.

Wenn wir für das Kalb die von Michaelis und Davidoff an Menschenblut gewonnenen Resultate bezüglich des Unterschiedes in der $[H^{\cdot}]$ bei 18° und 37,5° einsetzen, so erhalten wir bei 37,5°

---

[1]) Hasselbalch und Lundsgaard, diese Zeitschr. 38, 77, 1912.

$$p_{H^\cdot} = 7{,}59 - 0{,}21 = 7{,}38, \text{ entsprechend } [H^\cdot] = 0{,}42 \cdot 10^{-7},$$

Werte, die mit denjenigen von Hasselbalch und Lundsgaard vortrefflich übereinstimmen.

Die individuellen Abweichungen in der H-Ionenkonzentration der von mir untersuchten Kälber sind so minimal, daß sie vernachlässigt werden können; selbst die größten Ausschläge fallen unterhalb die Fehlergrenze der Methode.

Bei normalem menschlichen Venenblut mit Hirudinzusatz bei seiner natürlichen Kohlensäurespannung erhalten Michaelis und Davidoff[1]) Werte, die fast mit den an Ochsen und Färsen ermittelten identisch sind:

$$p_{H^\cdot} = 7{,}56 \quad \text{oder} \quad [H^\cdot] = 0{,}28 \cdot 10^{-7} \text{ bei } 18^0$$

und $$p_{H^\cdot} = 7{,}35 \quad \text{oder} \quad [H^\cdot] = 0{,}45 \cdot 10^{-7} \text{ bei } 37{,}5^0.$$

Lundsgaard[2]) hatte früher für menschliches hirudiniertes Venenblut bei 38^0 in seiner natürlichen CO_2-Tension für $p_{H^\cdot}$ die Zahl 7,19 ermittelt. Diesen Wert hält aber Hasselbalch in dessen Laboratorium Lundsgaard seine Arbeiten gemacht hat, für zu sauer und durch mangelhafte Technik bedingt. Die große Reihe von Werten, die Hasselbalch für menschliches Blut aufgestellt hat, ist um etwa 0,15 größer, also $p_{H^\cdot}$ im Durchschnitt gleich 7,34. In einem Falle, bei $18{,}9^0$ und 42,6 mm CO-Spannung (Alveolarspannung von $CO_2 = 40{,}9$ mm) ist $p_{H^\cdot} = 7{,}52$, bei 37^0 bei derselben Spannung wird $p_{H^\cdot}$ zu 7,35 ermittelt.

Für Venenblut von drei normalen Menschen (Tabelie V), das in seiner natürlichen Kohlensäuretension und bei ungefähr 14^0 gemessen wurde, habe ich als Mittelwert erhalten:

$$p_{H^\cdot} = 7{,}59 \quad \text{oder} \quad [H^\cdot] = 0{,}26 \cdot 10^{-7},$$

der von dem von Michaelis und Davidoff beobachteten nur unerheblich abweicht.

Die Unterschiede in den Werten von $p_{H^\cdot}$ im Blute verschiedener Personen, wie sie Michaelis und Davidoff nachweisen konnten, sind sehr gering und überschreiten kaum die Fehlergrenze der Methode; die größten betragen im Mittel

---

[1]) Michaelis und Davidoff, l. c.

[2]) Lundsgaard, diese Zeitschr. **41**, 247, 1912.

Tabelle V.

Wasserstoffionenkonzentration von venösem menschlichen Blut, bei seiner natürlichen CO_2-Tension gemessen (Blut mit Oxalatzusatz, mit 85 %iger ClNa-Lösung verdünnt).

	Temp. bei der Messung °C	p_H (Schaukelmethode) ohne Wechseln	mit Wechseln[1]
1. Fall. Normaler Mensch . . .	14,8	7,67	7,61
2. „ „ „ . . .	14,3	7,65	7,57
3. „ „ „ . . .	13,9	7,68	7,60
4. „ Paraplexie durch Pottsche Krankheit . . .	13,4	7,78	7,67

+ 0,08 und — 0,07. Die von mir gemessenen Werte weichen nur innerhalb der zulässigen Fehlergröße von einander ab.

Zum Schluß möchte ich noch erwähnen, daß Hasselbalch und Lundsgaard[2]) im arteriellen Kaninchenblut bei Körpertemperatur und bei natürlicher CO_2-Spannung

$$p_H = 7,33 \quad \text{oder} \quad [H^{\cdot}] = 0,47 \cdot 10^{-7}$$

ermittelt haben.

Wir sehen also, daß bei den drei untersuchten Tiergattungen die Wasserstoffionenkonzentration ihres Blutes praktisch dieselbe ist. Die individuellen Unterschiede dieser Konzentration innerhalb derselben Spezies kommen der Genauigkeitsgrenze der Methode so nahe, daß man ihr Vorhandensein nicht mit Sicherheit annehmen kann.

Anhang.

Tabelle VI.

Beispiel einer Wasserstoffionenkonzentrationsmessung an Blutserum, Auszug aus dem Protokoll.

Färse Nr. 4 (12 Monate alt). Blutentnahme am 5. Oktober 1913. 6. Bestimmung. Blutserum, am 6. Oktober gemessen. Atmosphärischer Druck 695 mm.

Dauer des Schüttelns	3 Min.	5 Min.	5 Min.
π gemessen	0,7798 Volt	0,7797 Volt	0,7797 Volt
Temperatur	—	16,2°	—

Mittelwert von π = 0,7797 Volt.

[1]) Mittelwert nach zwei Erneuerungen.

[2]) Hasselbalch und Lundsgaard, Skand. Arch. f. Physiol. 27, 13, 1912.

Korrektur für Druck: $\pi_{760} = 0{,}7797 + 0{,}0010 = \mathbf{0{,}7807}$ Volt.

$$p_{H^\cdot} = \frac{0{,}7807 - 0{.}3377}{0{,}0577 + 0{,}0002\ (16{,}2 \text{ bis } 18^0)} = \frac{0{,}4430}{0{,}0573} = \mathbf{7{,}73}.$$

Neue Serumportion:

Dauer des Schüttelns	**3 Min.**	**5 Min.**	**5 Min.**
π **gemessen**	0,7751 Volt	0,7752 Volt	0,7752 Volt
Temperatur	—	—	16,2°

Mittelwert von $\pi = 0{,}7752$ Volt.

Korrektur für Druck: $\pi_{760} = \mathbf{0{,}7762}$ Volt.

$$p_{H^\cdot} = \frac{0{,}7762 - 0{,}3377}{0{,}0573} = \frac{0{,}4385}{0{,}0573} = \mathbf{7{,}65}.$$

Neue Serumportion:

Dauer des Schüttelns	**3 Min.**	**5 Min.**	**6 Min.**
π **gemessen**	0,7727 Volt	0,7724 Volt	0,7724 Volt
Temperatur	—	16,1°	16,0°

Mittelwert von $\pi = 0{,}7725$ Volt.

Korrektur für Druck: $\pi_{760} = \mathbf{0{,}7735}$ Volt.

$$p_{H^\cdot} = \frac{0{,}7735 - 0{,}3377}{0{,}0577 + 0{,}0002\ (16 \text{ bis } 18^0)} = \frac{0{,}4358}{0{,}0573} = \mathbf{7{,}60}.$$

Weitere Beobachtungen über die Wirkungen des Blutserums nach intravenöser Einspritzung von Rohrzucker.

Von

F. Röhmann.

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts zu Breslau.)

(Eingegangen am 28. August 1915.)

Mit 1 Tafel.

Durch Versuche, die T. Kumagai auf meine Anregung und unter meiner Mitwirkung ausgeführt hatte, war die Angabe von E. Weinland und E. Abderhalden bestätigt worden, daß nach der parenteralen Zufuhr von Rohrzucker das Blutserum unter gewissen Bedingungen die Fähigkeit erhält, Rohrzucker zu spalten. T. Kumagai hatte aber weiterhin die höchst merkwürdige und überraschende Tatsache gefunden, daß von einem Serum, das Rohrzucker spaltet, auch die aus dem Rohrzucker entstehenden Spaltungsprodukte, d-Glucose und d-Fructose, noch weitere Umwandlungen erfahren können. Es entstand aus d-Glucose d-Fructose und aus der einen oder anderen von beiden neben einer stärker rechtsdrehenden, bisher noch unbekannten Substanz ein Disaccharid, das sich als Milchzucker erwies[1]).

Eine derartige Wirkung des Blutserums hat in der gesamten Biologie kaum ihresgleichen. Sie bedeutet nichts weniger als die Umwandlung einer Aldose in eine Ketose bzw. umgekehrt, einer Ketose in eine Aldose, weiter eine sterische Änderung innerhalb eines Hexosemoleküls und die Synthese eines Disaccharids aus zwei Hexosemolekülen. Und alles dieses erfolgt durch unbekannte im Blute wirksame Kräfte, vermutlich Enzyme, bei Bruttemperatur innerhalb einiger

---

[1]) Diese Zeitschr. **57**, 380, 1913; **61**, 464, 1914.

Stunden und in einem Umfange, der den gebildeten Milchzucker grammweise darzustellen gestattet.

Als T. Kumagai im Herbst 1913 gezwungen war, plötzlich nach Japan zurückzukehren, habe ich selbst diese Versuche weitergeführt, um die Angaben Kumagais im einzelnen nachzuprüfen und die in seiner Arbeit aufgeworfenen Fragen einer weiteren Durcharbeitung zu unterziehen.

I. Zur Kenntnis der Bedingungen, unter denen das Blutserum nach der intravenösen Rohrzuckereinspritzung die Fähigkeit erhält, Rohrzucker zu spalten und Milchzucker zu bilden.

Weinland[1]) hatte Invertin im Blute von zwei jungen Hunden gefunden, denen er längere Zeit große Mengen von Rohrzucker, nämlich 6 g bzw. 4 bis 9 g Rohrzucker auf das Kilo Körpergewicht in etwa 40%iger Lösung eingeführt hatte. Bei einer ähnlichen Versuchsanordnung fand Kumagai auch nach mehrtägiger Injektion kleiner Mengen von Rohrzucker, nämlich 0,5 bis 1 g Rohrzucker auf das Kilo im Tage, Invertin im Serum.

Hiernach schien es, als ob in Übereinstimmung mit gewissen, von Weinland vertretenen Anschauungen das Invertin im Blut erst dann auftritt, wenn der Rohrzucker dem Körper während einer bestimmten, nicht zu kurzen Zeit wiederholt parenteral einverleibt worden ist. Zu dieser Annahme stimmten auch einige Versuche von E. Abderhalden und C. Brahm[2]).

Von vier Versuchen, die Abderhalden und Brahm mitteilen, war einer negativ. In diesem waren dem Hunde von 11,4 Kilo am 19., 22., 24. XI. je 5 g Rohrzucker unter die Haut gespritzt worden. Positiv waren zwei Versuche. In dem ersten trat das Ferment schwach auf, als der 6 Kilo schwere Hund 4mal je 1 g und 4 Tage später noch 2 g Rohrzucker erhalten hatte. Es wurde stärker, als der Hund weiterhin noch einen Tag um den anderen 2 g und 2mal 5 g Rohrzucker erhalten hatte. In dem dritten Versuche erhielt der 7,2 Kilo schwere Hund abends 5 g Rohrzucker, am folgenden Morgen war kein Ferment nachweisbar. Er erhielt dann nochmals 10 g; auch jetzt war am folgenden Tage kein Invertin vorhanden. Nun erhielt der Hund innerhalb 4 Tagen 3mal je 5 g Rohrzucker. Die hierauf folgende Untersuchung ergab das auffallende Resultat, daß das Rohrzuckerserumgemisch während

---

[1]) Zeitschr. f. Biologie **47**, 279, 1905.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **64**, 429, 1909.

30 Stunden keine Änderung der Drehung, von da ab aber einen plötzlichen Abfall der Drehung zeigte.

Andere Versuche von Abderhalden und C. Brahm verliefen negativ. Es wurde deshalb „eine größere Anzahl von Versuchen ausgeführt, um festzustellen, unter welchen Bedingungen sich das Auftreten von Fermenten konstant feststellen läßt, jedoch bis jetzt ohne Erfolg. Bald war eine Spaltung nachweisbar, bald blieb die Anfangsdrehung ganz konstant".

In späteren Versuchen von Abderhalden und Kapfberger[1]) „wurden ausnahmslos positive Resultate erhalten, als man Hunden kleine Mengen Rohrzucker parenteral beibrachte. Es wurden subcutan 10 ccm einer 5 bis höchstens 10%igen Lösung injiziert und bei intravenöser Injektion nur 2 ccm einer 5 bis 10%igen Lösung. In keinem einzigen Falle war das Resultat ein negatives, dagegen beobachteten wir insofern individuelle Unterschiede, als beim einen Tier der zugesetzte Rohrzucker vom Plasma resp. Serum rascher gespalten wurde als in anderen Fällen". Die Spaltung war bei subcutanen Injektionen nach 7 bis 8 Stunden, bei intravenöser schon nach einer Viertelstunde nachweisbar.

Daß die Resultate aber doch nicht so sicher sind, zeigen Versuche, die Abderhalden neuerdings zusammen mit Grigorescu[2]) anstellte.

Hier fand sich bei zwei Hunden (die Größe der Hunde ist in dieser Arbeit nicht angegeben) 24 Stunden nach subcutaner Injektion von 20 ccm einer 25%igen Rohrzuckerlösung kein Invertin im Blute.

Auch nach intravenöser Injektion war von vier Versuchen der eine negativ. In den drei anderen wurden wieder größere Mengen Rohrzucker in die Vene gespritzt. Zwei Hunde erhielten 20 ccm einer 10%igen Rohrzuckerlösung. 24 bzw. 48 Stunden später war das Ferment vorhanden. Bei dem dritten Hunde war 48 Stunden nach Einspritzung von 10 ccm einer 1%igen Lösung kein Ferment nachweisbar. Auch als weitere 20 ccm einer 10%igen Lösung eingeführt wurden, war 24 Stunden nach der Injektion die Wirkung auf den Rohrzucker schwach und erst 5 Tage später sehr deutlich.

Die Injektion kleiner Rohrzuckermengen, wie sie Abderhalden und Kapfberger angewendet hatten, hatte auch in den Versuchen Kumagais in keinem Falle das Aufreten von Invertin zur Folge.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **69**, 25, 1910.

[2]) Ebenda **90**, 419, 1914.

Das Erscheinen von Invertin im Blute nach parenteraler Zufuhr von Rohrzucker erinnerte an das Auftreten eines Immunkörpers nach Einführung eines Antigens, um so mehr als von namhaften Serologen auch gewisse Wirkungen von Immunseren auf die Anwesenheit von Enzymen bezogen werden. Kumagai vermutete deshalb, daß ähnlich, wie sich die Wirkung eines Immunserums erst nach einer bestimmten Zeit zu erkennen gibt, so auch das Invertin erst eine Zeit nach der Rohrzuckereinspritzung auftreten würde und daß zum Hervorrufen des Invertins nicht dauernde Injektionen notwendig seien, sondern einmalige oder wenige kurz aufeinander folgende Injektionen, und zwar größerer Mengen von Rohrzucker. Nach den Angaben Kumagais ist dies auch tatsächlich der Fall. Die Wirkung derartiger Injektionen sei eine völlig sichere.

Nach meinen eigenen Beobachtungen ist aber der Erfolg der intravenösen Rohrzuckerinjektion bei Hunden anscheinend kein so konstanter, als man nach den Angaben Kumagais anzunehmen gezwungen war. Von den vier Hunden, an denen ich bisher Versuche anstellte, wies der eine (Hund III), der an drei aufeinander folgenden Tagen je 1 g Rohrzucker pro Kilo erhalten hatte, nach 5, 12, 21, 23 Tagen kein Invertin im Blute auf. Auch später nach weiteren Injektionen noch größerer Rohrzuckermengen wurde es nicht gefunden.

Bei einem zweiten Hunde (Hund I) erschien Invertin nur vorübergehend am sechsten Tage nach der Injektion. Dann verschwand es und war auch später, als die Injektionen in entsprechenden Abständen wiederholt wurden, nicht wieder nachweisbar. Bei dem dritten Hunde (Hund II, weiblich) wurde bei dreimaliger Injektion von je 1 g Rohrzucker pro Kilo Körpergewicht am 5., 12., 19. Tage nach der Injektion kein Invertin gefunden, auch nicht nach einer ersten Wiederholung der Injektionen. Nach späteren Injektionen ließ es sich zeitweilig wiederholt nachweisen.

Ähnlich verhielt sich der vierte Hund.

Ein weiterer Unterschied in meinen und Kumagais Beobachtungen besteht darin, daß in meinen Versuchen meistens nur Invertin vorhanden war, die Amylase war gelegentlich und nur wenig vermehrt, eine Umwandlung von Lävulose und Dextrose, sowie eine Bildung von Milchzucker wurden bei diesen Hunden nicht oder nicht mit Sicherheit gefunden.

Die Unsicherheit, die in den Beobachtungen Abderhaldens und seiner Mitarbeiter liegt, wird also durch meine und Kumagais Versuche nicht gehoben.

E. Abderhalden hatte ursprünglich die in seinen Versuchen liegenden Widersprüche nicht beachtet oder ihnen anscheinend keinen besonderen Wert beigelegt. Wer seinen Aufsatz über die „Schutzfermente des tierischen Organismus“[1]) las, in dem Abderhalden seine Beobachtungen über die nach parenteraler Zufuhr gewisser Eiweißstoffe und Kohlenhydrate im Blutplasma auftretenden Fermente zusammenfaßt, mußte zu der Anschauung kommen, daß das Blut regelmäßig kurz nach der Einspritzung kleiner Mengen von Rohrzucker Invertin enthält. Abderhalden berücksichtigte also nur die mit Kapfberger, aber nicht die vorhergehenden zusammen mit Brahm gemachten Beobachtungen. Nachdem in der Arbeit von Kumagai hierauf hingewiesen worden war, stellte Abderhalden mit Grigorescu die oben erwähnten Versuche an, in denen wir keine Bestätigung der Angaben von Kapfberger finden. Er sagt jetzt[2]): „Spritzt man dem Hunde etwas Rohrzucker in die Blutbahn ein, dann kann man meist nach kurzer Zeit nachweisen, daß nunmehr das Plasma imstande ist, Rohrzucker zu zerlegen.“ Also „etwas“ Rohrzucker und „meist nach kurzer“ Zeit, d. h. es läßt sich weder die Menge des Rohrzuckers mit Sicherheit angeben, die zum Hervorrufen des Invertins erforderlich ist, noch die Zeit, die nach der Injektion verstreichen muß, ehe das Invertin im Blute erscheint.

Welches sind nun die Ursachen für diese — ich will E. Abderhalden darin recht geben — sich vielleicht nur scheinbar widersprechenden Beobachtungen?

Zunächst konnte man an die Möglichkeit von Beobachtungsfehlern denken.

E. Abderhalden bevorzugt bei seinen serologischen Forschungen die polarimetrische Untersuchung. In den oben erwähnten Versuchen bringt er das Rohrzuckerserumgemisch in das Polarisationsröhrchen, legt es in den Thermostaten und verfolgt die eintretende Drehungsänderung. Bedenklich erschien es uns, daß E. Abderhalden seinen Gemischen kein Antisepticum zusetzt. Die Möglichkeit, daß man durch strengste Asepsis eine Entwicklung von Bakterien vermeiden kann, ist zuzugeben.

---

[1]) Berlin, Verlag v. Julius Springer, 1912.

[2]) Schutzfermente, Berlin 1914, 72.

Aber die Gefahr, daß die Gemische durch Bakterien infiziert werden, ist eine große, und Angaben über eingetretene Trübungen in den Versuchen Kapfbergers, über die hinaus noch tagelang weiter polarisiert wurde, konnten auf Bakterienwirkung bezogen werden, ebenso wie die in verschiedenen Arbeiten beobachtete, aber nicht beachtete Erscheinung, daß die Abnahme der Drehung erst eine Reihe von Stunden nach Beginn des Versuches eintritt.

Die Möglichkeit, daß die Drehungsänderung von etwas anderem als der Umwandlung des Rohrzuckers herrühre, also etwa von einer Umwandlung oder einem teilweisen Ausfallen von Eiweißstoffen, sucht Abderhalden durch einen Vergleichsversuch mit einem Gemisch von Serum und Kochsalzlösung auszuschließen. Ein solcher Beweis per exclusionem hat aber sein Bedenkliches.

Den Grund, warum Abderhalden den Zusatz eines Antisepticums vermeidet, sagt er nicht. Vermutlich ist für Abderhalden bestimmend, daß das Antisepticum die direkte Polarisation erschwert oder unmöglich macht. Abderhalden benutzt sowieso schon kurze Polarisationsrohre (2,5 cm?). Man kann dies aus den mitgeteilten Zahlen schließen. Die Rohrlänge gibt Abderhalden nicht an, obgleich dies zur Beurteilung der Zahlen doch wesentlich ist. Es wird nur das Verhältnis angegeben, in dem ursprünglich Serum und Rohrzucker gemischt wurden. Dann scheinen aber — anscheinend wieder wegen Schwierigkeit der Polarisation — nachträglich Verdünnungen vorgenommen worden zu sein, ohne daß sich hierüber in den Protokollen eine Bemerkung findet. Kurze Röhren und Verdünnungen erhöhen aber die Größe der Beobachtungsfehler.

Ein wesentlicher Vorteil der Asepsis ist bisher nicht nachgewiesen. Wiederholte Kontrollversuche haben uns gezeigt, daß wenn Invertin im Serum vorhanden war, mit oder ohne Antisepticum (Toluol) fast gleiche Resultate erhalten wurden.

Wir stellten die Gemische in Reagensgläsern her, setzten Toluol hinzu, ließen im Wärmeschranke stehen und polarisierten, nachdem wir das Eiweiß durch Erhitzen mit essigsaurem Natrium und Eisenchlorid entfernt hatten, stets im 1 Dezimeterrohr, in einem Halbschattenapparat, der eine Minute also 0,016° abzulesen gestattete. Wir kontrollierten ferner das Ergebnis der Polarisation regelmäßig mit der Trommerschen und der Phenylhydrazinprobe. Auch Abderhalden gibt gelegentlich an, daß er das Reduktionsvermögen „bestimmte". Methoden und Zahlen sind aber bisher nicht mitgeteilt.

Soweit ich bisher sehe, läßt sich durch die angewendeten Methoden das Schwanken in dem Auftreten des Invertins nicht erklären.

Abderhalden denkt an individuelle Unterschiede und an die „Möglichkeit, daß die Art der Ernährung von Einfluß ist. Mancher Hund ist gewissermaßen zum vornherein auf Rohr-

zucker eingestellt, weil er mit seiner Nahrung solchen erhält. Daneben gibt es sicher Hunde, die nie Rohrzucker zu fressen erhalten . . ." Abderhalden versucht auch diese Anschauung experimentell zu stützen. Er füttert Hunde mit Rohrzucker und sieht, ob dies das Auftreten des Invertins nach der parenteralen Rohrzuckerzufuhr begünstigt. Aber er sagt selbst: „Die Zahl der Versuche ist noch zu gering. Auch muß betont werden, daß in einem Falle der Erfolg ausblieb."

Weniger den Tatsachen entspricht die Darstellung, die Abderhalden kurz vorher in der Deutschen med. Wochenschr. 3. Febr. 1914, Nr. 6, 268 gibt. Er sagt: „Mir fiel schon bei den ersten Versuchen über das Verhalten des Hundes nach parenteraler Zufuhr von Rohrzucker auf, daß nicht jedes Tier Invertin in die Blutbahn sendet. Das Serum mancher Hunde zeigt sehr bald nach der Zufuhr des erwähnten Disaccharids einen Abbau von Rohrzucker. Andere Hunde reagiren erst nach wiederholter Zufuhr des Rohrzuckers. Dieser Erscheinung ging ich nach und fand auch bei weiteren Versuchen die Ursache dieses verschiedenen Verhaltens. Es beruht offenbar darauf, daß manche Hunde in der Darmwand und im Darmkanal Invertin besitzen und manche nicht[1]). In der Tat läßt sich, wie ich gemeinsam mit Wildermuth zeigen konnte, bei Hunden, die auf parenterale Zufuhr von Rohrzucker kein Invertin an das Blut abgeben, diese Eigenschaft erzeugen, wenn man ihnen längere Zeit dieses Disaccharid per os zuführt. Sollte nicht in diesen Fällen das Invertin in der Darmwand und speziell in den Zellen jener Drüsen entstehen, die das Invertin sezernieren[2])?" Was die letzte Bemerkung betrifft, so ist auf diese Möglichkeit, wie auch in der Arbeit von T. Kumagai zitiert wird, schon von E. Weinland hingewiesen worden.

Auch ein Versuch von mir spricht nicht zugunsten dieser Annahme von Abderhalden. Trotzdem ein Hund täglich 100 g Rohrzucker im Futter erhielt, ließ sich nach intravenöser Einspritzung von 1 g Rohrzucker pro Kilo Tier kein Invertin im Blute nachweisen. (Hund I 9 bis 21. II 15, s. auch Kaninchen XII.)

Eine weitere Möglichkeit ist die, daß das Invertin, wenn es zu fehlen scheint, nicht frei, sondern in irgendeiner Form im Blute gebunden oder als Zymogen vorhanden ist. Hierfür sprachen Beobachtungen, nach denen das Blut zunächst un-

---

[1]) Es handelt sich hier nur um eine Vermutung Abderhaldens. In zahlreichen Versuchen habe ich niemals Invertin in der Darmschleimhaut vermißt, s. F. Röhmann und J. Nagano, Über die Resorption und die fermentative Spaltung der Disaccharide im Dünndarm des ausgewachsenen Hundes, Pflüg. Arch. **95**, 533, 1903.

[2]) S. auch Münch. med. Wochenschr., 3. Febr. **1914**, Nr. 5, 237.

wirksam war und erst beim Stehen seine Wirksamkeit erlangte (s. Hund II, 13. VII. 14; Hund IV, 13. VII. 14, s. auch die unten mitgeteilten Versuche von Kumagai an Kaninchen).

Versuche, Blutserum, in dem das Ferment vermutet wurde, durch Zusatz kleiner Mengen sehr verdünnter Säuren oder Alkalien oder durch Erwärmen zu aktivieren, gelangen nicht. Auch die Möglichkeit, daß die Wirkung eines unwirksamen Serums durch Zusatz eines „Komplements" hervorgerufen werden könnte, wurde in Erwägung gezogen.

Gewisse Erfahrungen der Immunitätsforschung lassen es auch möglich erscheinen, daß nach der parenteralen Rohrzuckerinjektion der Körper auf die Bildung des Invertins alsbald mit einer weiteren Reaktion antwortet, die das Invertin in eine unwirksame Verbindung überführt.

Ganz unerwartet war es für mich, daß das Serum auch in den Fällen, wo Invertin vorhanden war, weder Lävulose noch Dextrose in Milchzucker überführte. Bei Hund II war am 6. VIII. eine Andeutung davon vorhanden. Bei demselben Hunde zeigte dies Serum-Rohrzuckergemisch am 13. X. und 18. X. eine auffallend starke Rechtsdrehung, für die es nicht gelang, den Grund zu finden. Auch die Amylase war in den Fällen, wo sich Invertin fand, wenn überhaupt, meist nur verhältnismäßig wenig vermehrt.

Alles dies bewies, daß die Angaben Kumagais, soweit sie sich auf das Erscheinen von Invertin im Serum des Hundes nach der parenteralen Zufuhr von Rohrzucker beziehen, in ihrer Allgemeinheit nicht zutreffend waren.

b) Versuche an Kaninchen.

T. Kumagai hatte auch bei seinen Versuchen am Kaninchen nach parenteraler Zufuhr kleiner Rohrzuckermengen kein Invertin gefunden, wohl aber bei einem Kaninchen am 16. Tage nach einmaliger Einspritzung von 10 g Rohrzucker in die Ohrvene. In diesem Falle hatte das Serum den Traubenzucker in eine linksdrehende Substanz, vermutlich Lävulose, übergeführt. Es ist mir aber bekannt, daß Kumagai auch in einer Anzahl von Fällen trotz Einspritzung großer Dosen Rohrzucker kein Ferment fand, ohne daß es ihm zunächst gelang, den Grund hierfür festzustellen. Bei einer Nachprüfung der

Angaben Kumagais fanden Abderhalden und Wildermuth[1]), „daß Kaninchen auf die parenterale Rohrzuckerzufuhr ganz prompt mit Sekretion von Invertin in das Blut hinein reagieren". Sie fanden dieses Ferment noch 14 Tage nach der Injektion. Entgegen den Angaben von T. Kumagai konnten sie „in keinem einzigen Falle auch nur den geringsten Einfluß des Rohrzuckerserums auf Milchzucker, Dextrose, Lävulose und Galaktose feststellen". Diesem negativen Ergebnis legt Abderhalden eine solche Bedeutung bei, daß er die Versuchsergebnisse T. Kumagais in seinem Werke über die Abwehrfermente nicht der Erwähnung für wert hält. Er sagt aber in der Arbeit mit F. Wildermuth, daß es ihm fern läge, „die Ergebnisse der Versuche von Röhmann und Kumagai ohne weiteres anzuzweifeln".

Der Grund, aus dem E. Abderhalden und F. Wildermuth die Beobachtungen von Kumagai nicht bestätigen konnten, liegt mit größter Wahrscheinlichkeit zum Teil darin, daß E. Abderhalden wieder, wie in den Versuchen Kapfbergers, kleine Rohrzuckermengen zur Injektion verwenden ließ. Es wurden 5 bis 10 ccm einer 10⁰/₀igen Rohrzuckerlösung injiziert, während Kumagai nach dem einen Versuch, den er anführt, 10 g Rohrzucker in die Vene spritzte.

Ich selbst habe eine größere Zahl von Versuchen am Kaninchen angestellt, die ich im folgenden besprechen will.

Die etwa 2,75 bis 3,25 kg schweren Kaninchen erhielten entweder an drei aufeinander folgenden Tagen je 8 g Rohrzucker oder am ersten Tage 7,5, am zweiten 5, am dritten 2,5 g Rohrzucker, die in konz. wäßriger Lösung in eine Ohrvene gespritzt wurden. Meist 5 Tage später wurde die erste Blutprobe entnommen und dann nach Verlauf einer Reihe von Tagen weitere Proben. Während Abderhalden den Kaninchen durch Herzpunktion nicht weniger als 15 bis 20 ccm entzog, nahmen wir aus einer Ohrvene 3 bis 4 ccm. Das Blut gerann in dem Zentrifugengläschen und wurde in den späteren Versuchen nicht früher als nach 4 Stunden zentrifugiert. Hierzu sah ich mich veranlaßt durch Beobachtungen, die mir Kumagai nachträglich zur Verfügung stellte (s. u. Versuche). Sie zeigten unter anderem,

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 90, 388, 1914.

daß die Amylasewirkung, die man im Blute nach der parenteralen Rohrzuckerzufuhr beobachtet, beim Stehen zunimmt. Und ähnliches war auch für das Invertin möglich.

Die von mir angestellten Versuche kann ich in drei Gruppen teilen. In der ersten ließ sich nach intravenösen Rohrzuckereinspritzungen kein Invertin im Blute nachweisen. In der zweiten Gruppe war Invertin vorhanden; eine weitere Umwandlung von Lävulose und Dextrose fehlte entweder vollkommen oder sie war nur schwach. Die Amylase war in manchen Fällen ebenfalls vermehrt, aber nie sehr stark. In der dritten Gruppe fand sich Invertin, es wurde bei der Einwirkung des Serums auf Rohrzucker oder Lävulose Galaktose und Milchzucker gebildet, und gleichzeitig wurde Stärke mit mehr oder weniger Kraft vom Serum verzuckert.

Zur Gruppe I gehören Kaninchen VI, VII, IX, X, XII, XIII, XVIII, XXVIII, XL, XLI, XLII. Von diesen starben X und XLII nach den ersten Injektionen ohne erkennbaren Grund am 12. bzw. 13. Tage. Den übrigen Tieren war nach den ersten Injektionen in gewissen Zeitabständen von neuem Rohrzucker eingespritzt worden.

Bei Kaninchen XIII trat das Ferment auch nicht auf, als es mit der Schlundsonde täglich 10 g Rohrzucker erhielt.

Gruppe II umfaßt Kaninchen VIII, XI, XIV, XX, XXVI, XXXI, XXXIII, XXXIV, XXXIX.

Den Übergang von Gruppe II zu Gruppe III bildet Kaninchen XIX.

Bei Kaninchen XIX wirkte das Serum nach intravenöser Einspritzung von 3 mal je 8 g Rohrzucker 12 Tage später auf Rohrzucker und Lävulose. Nach weiteren 7 Tagen hatte die Wirkung noch zugenommen, war aber noch schwach im Vergleich zu den später mitzuteilenden Versuchen. Die Diastase war nicht vermehrt. Unter dem Einfluß weiterer parenteraler Rohrzuckerzufuhr verschwanden die Fermente.

Kaninchen XXV, kein Ferment nach Einspritzung von 10 ccm einer 10%igen Rohrzuckerlösung, auch nicht nach der ersten Einspritzung von 3 mal 8 g Rohrzucker. Als aber noch einmal an 3 aufeinander folgenden Tagen je 8 g Rohrzucker eingespritzt wurden, wurde am Tage darauf Stärke stark saccharifiziert, Rohrzucker invertiert, aber Lävulose nicht verändert. 5 Tage später wurde das Tier durch Halsschnitt getötet. Es ergab sich der merkwürdige Befund, daß Lävulose nicht angegriffen wurde, daß aber Stärke energisch saccharifiziert und Rohrzucker auch von dem sehr stark verdünnten Serum in eine viel stärker als

Rohrzucker rechtsdrehende Substanz übergeführt wurde. Es schien sich auch Milchzucker und Galaktose zu bilden.

In Gruppe III sind enthalten Kaninchen I, II, III, XXI, XXII, XXIII, XXXVIII. Alle diese Tiere mit Ausnahme von IV, das vorher getötet wurde, gingen unter dem Einfluß der Rohrzuckerinjektion zugrunde. Auffallend war hierbei zum Teil die starke Gewichtsabnahme, die die Kaninchen zeigten, obgleich sie dem Anschein nach normal fraßen. Im einzelnen zeigten die Kaninchen ein sehr verschiedenes Verhalten.

Kaninchen XXI starb am 6. Tage nach der Einspritzung des Rohrzuckers. Das aus der Leiche gewonnene Blut wirkte äußerst energisch auf Rohrzucker.

Kaninchen XXXVIII reagierte auf die Rohrzuckereinspritzungen nach 8 Tagen mit einer geringen Vermehrung der Diastase, invertierte Rohrzucker, wirkte aber nicht auf Lävulose; ebenso am 13. Tage. Am 17. Tage nach der Rohrzuckereinspritzung lag das Tier im Sterben. Es wurde durch Halsschnitt getötet. Das Blut stand bis zum folgenden Tage im Kühlen. Jetzt bildet es, nach dem mikroskopischen Verhalten der Osazone zu urteilen, aus Rohrzucker Galaktose und Milchzucker, wirkte auf Lävulose und saccharifizierte Stärke sehr kräftig.

Kaninchen XXII. Nach der erstmaligen Einspritzung von Rohrzucker war am 7. Tage das Serum noch unwirksam. Es wurde noch einmal Rohrzucker eingesprizt. Am 5. Tage später invertierte das Serum Rohrzucker schwach und wirkte nicht auf Lävulose. Diese Wirkung verschwand und ließ sich zunächst auch nicht nachweisen, als wiederholt in gewissen Abschnitten größere Mengen von Rohrzucker eingespritzt wurden. Das Tier wurde elend und schien dem Tode nahe. Es wurde entblutet, und jetzt fand sich, ein Befund, der bisher noch nicht wieder erhoben wurde, in dem Harn der Blase anscheinend Milchzucker, obgleich der eingespritzte Rohrzucker schon vollständig ausgeschieden zu sein schien. Das Blutserum saccharifizierte stark und wirkte äußerst energisch auf Rohrzucker und Lävulose.

Ein eigenartiger Zufall war es, daß gerade die ersten Kaninchen, an denen ich meine Beobachtungen machte, am besten mit den Angaben T. Kumagais übereinstimmten.

Bei Kaninchen I wirkte das Serum am 7. Tage nach den ersten Rohrzuckereinspritzungen sehr stark auf Stärke und Rohrzucker, auf letzteren unter Bildung von Galaktose und Milchzucker. Bei einer neu erfolgenden zweiten subcutanen Injektion von Rohrzucker enthielt der Harn Milchzucker und vermutlich auch Galaktose. Das Kaninchen starb unter Gewichtsabnahme. Die Fermente blieben bis nach dem Tode im Blute nachweisbar.

Kaninchen III reagierte auf die ersten Einspritzungen von Rohrzucker nicht. Das Körpergewicht nahm aber stark ab. Nach einer weiteren Einspritzung von 5 g war die Diastase nicht vermehrt, die

Wirkung auf Rohrzucker und Lävulose stark. Der Harn enthielt (Galaktose und) Milchzucker. Das Tier ging dem Tode entgegen. Das Blut enthielt die Fermente stark.

Kaninchen XXIII. Nach den ersten Injektionen war nur Invertin nachweisbar. Nach einer zweiten Injektion schien auch Milchzucker aus Rohrzucker gebildet zu werden. Eine Umwandlung der Lävulose war nicht nachweisbar. Bei weiteren wiederholten Injektionen verschwand die Fermentwirkung vollständig, schließlich aber trat sie wieder, wenn auch nicht sehr stark, auf. Das Tier schien zugrunde zu gehen. Es wurde getötet. Sein Blut enthielt vermehrte Amylase und wirkte auf Rohrzucker und Lävulose.

Kaninchen II reagierte auf die ersten Rohrzuckereinspritzungen nicht. Auch nach einer zweiten kleineren Injektion waren im Blut zunächst die Fermente nicht nachweisbar. Der Harn schien aber Galaktose zu enthalten. Nach einigen Tagen war die Amylase vermehrt, und aus Rohrzucker und Lävulose wurde Galaktose gebildet. Dann schienen die Fermente zu verschwinden, waren später aber wieder nachweisbar. Das Tier wurde elend und nahm an Gewicht ab. Auch die Fermentwirkung des Blutes wurde schwächer. Das vom sterbenden Tier durch Halsschnitt gewonnene Blut war unwirksam.

Kaninchen XIX. Nach den ersten Rohrzuckerinjektionen wirkte das Serum noch nicht auf Stärke, aber auf Rohrzucker und Lävulose, auf letztere aber nicht stark, unter Bildung von Galaktose-Milchzucker.

Nach fortgesetzten Rohrzuckerinjektionen wurde das Serum unwirksam.

Kaninchen IV. Auch hier wirkte das Serum nach den ersten Rohrzuckerinjektionen nicht auf Stärke, aber auf Rohrzucker unter Bildung von Milchzucker. Der Harn enthielt Milchzucker. Nach einer weiteren Rohrzuckereinspritzung nahm die Diastase im Blut zu. Die Wirkung auf Rohrzucker und Lävulose war nicht sehr stark. Als das Tier einige Tage später entblutet wurde, erwies sich das Serum als unwirksam.

Überblickt man die Gesamtheit aller dieser Versuche, so läßt sich bisher nicht mit Sicherheit sagen, unter welchen Bedingungen nach der parenteralen Rohrzuckereinspritzung Invertin und die weiteren von mir und Kumagai entdeckten Fermentwirkungen im Blute der Kaninchen auftreten. Im Gegensatz zu Abderhalden habe ich ebensowenig wie T. Kumagai jemals nach Injektion kleiner Rohrzuckermengen Invertin im Blute gefunden, kann aber in Anbetracht der ganzen noch herschenden Unsicherheit und der Verschiedenheit der angewendeten Methode die Richtigkeit der Angaben von E. Abderhalden nicht ohne weiteres bestreiten. Auch ich habe wie T. Kumagai neben dem Invertin in gewissen Seren die zum Teil ganz außer-

ordentliche Steigerung der Wirkung auf Stärke, sowie die Umwandlung von Rohrzucker und Lävulose in Galaktose und Milchzucker, und zwar nur nach intravenöser Einspritzung großer Rohrzuckermengen beobachtet.

II. Über die Bildung von d-Galaktose und Lactose aus Rohrzucker, d-Glucose und d-Fructose durch die „Stereokinasen" des Rohrzuckerserums.

Kumagai beobachtete, wie erwähnt, daß nach der parenteralen Zufuhr von Rohrzucker die Wirkung auf Stärke, die das Blut eines jeden Tieres unter gewöhnlichen Verhältnissen zeigt, ganz außerordentlich zunehmen kann. Die Richtigkeit dieser Tatsache zeigen auch meine Versuche. Da, wo das Invertin zunahm, fand sich meist in ähnlicher Weise auch eine Zunahme der Diastase, so daß man im allgemeinen aus dem Verhalten des Serums zu Stärke das Verhalten zu Rohrzucker voraussagen konnte. Die größten Werte fanden sich stets zugleich mit den größten Werten für die Wirkung auf Rohrzucker, und ich will hier noch einmal ausdrückich auf die erstaunlich großen Verdünnungen hin weisen, bei denen das Serum unter Umständen sowohl auf Stärke wie auf Rohrzucker einwirkt. Kumagai fand, daß in 10 ccm einer 1 $^0/_0$ igen Stärkelösung nach Zusatz von 1 ccm einer auf das 10^{-12} fache verdünnten Serumlösung die Jodreaktion innerhalb 24 Stunden verschwand. Ich fand dasselbe bei einer Verdünnung auf das 10^{-8} fache, ohne daß in letzterem Falle vielleicht das Maximum erreicht war. Bei ähnlichen Verdünnungen wurde auch noch Rohrzucker invertiert, bei etwas geringerer noch Galaktose bzw. Milchzucker gebildet.

Was die Produkte betrifft, die durch das Rohrzuckerserum aus Rohrzucker, Lävulose und Dextrose gebildet wurden, so konnte bisher mit Sicherheit festgestellt werden, daß aus Rohrzucker und Lävulose Milchzucker entsteht[1]). In weiteren Versuchen, die ich im folgenden mitteile, zeigte sich, daß sich als Zwischenprodukt Galaktose bildet. Die Ursache für die außerordentlich hohen Drehungswerte, die sowohl Kumagai wie ich in gewissen Fällen in der Rohrzuckerlösung nach Einwirkung des Rohrzuckerserums beobachteten, wurde bisher noch nicht gefunden.

---

[1]) Biochem. Zeitschr. **61**, 464, 1914.

Kumagai hatte auch die Umwandlung von Dextrose in Lävulose näher verfolgt und die letztere über die Calciumverbindung rein gewonnen. Ich wollte diese Versuche nicht eher veröffentlichen, ehe ich sie nicht selbst noch einmal wiederholt hätte. Da ich aber zurzeit nicht weiß, wann mir dies möglich sein wird, so teile ich sie unten nach dem Protokoll Kumagais mit.

Bei allen diesen Untersuchungen erwies sich neben der Prüfung und Bestimmung des Reduktions- und Drehungsvermögens die Prüfung der Löslichkeit und Krystallform der Phenylosazone als wichtigstes Hilfsmittel zur vorläufigen Beurteilung der entstehenden Produkte.

Die Krystallformen des Glucosazons, des Lactosazons und Maltosazons sind bekannt. Ich habe sie in meiner Biochemie photographisch wiedergegeben so, wie man sie erhält, wenn man die betreffenden Lösungen mit essigsaurem Phenylhydrazin erhitzt und den Niederschlag nach dem Erkalten mikroskopiert. Krystallisiert man aber das Lactosazon und Maltosazon aus heißem Wasser um, so werden die Bilder etwas anders. Lactosazon besteht dann aus Kugeln, die aus langen, feinen gebogenen Nadeln bestehen (s. d. Tafel, Photogramm 5) und Maltosazon bildet dünne, gelbe, zuweilen zu Sternen angeordnete Plättchen.

Erhitzt man die von Eiweiß befreite Lösung, die man nach Einwirkung des Rohrzuckerserums auf Rohrzucker erhält (vgl. unten S. 71), mit essigsaurem Phenylhydrazin, so zeigt je nach dem Fermentgehalt des Serums der entstandene Niederschlag ein verschiedenes Verhalten. Enthält das Serum nur Invertin, so scheidet sich schon während des Erhitzens typisches Glucosazon ab. Sehr kleine Mengen von Glucosazon bilden sich bei etwa 1 stündigem Erhitzen auch in reinen Rohrzuckerlösungen. Zur Entscheidung, ob überhaupt eine fermentative Rohrzuckerspaltung eingetreten ist, ist deshalb die Phenylhydrazinprobe nicht geeignet. Hierzu dient in erster Linie die Trommersche Probe und dann der Ausfall der Polarisation.

Bei vollkommener Inversion der $^1/_2$ $^0/_0$ igen Rohrzuckerlösung, das war die Konzentration, die in meinen Beobachtungen zur Untersuchung kam, scheidet sich schon während des Erhitzens im Wasserbade das Glucosazon in reichlicher Menge ab.

Sind neben dem Invertin andere auf die d-Fruktose bzw. d-Glucose wirkende Enzyme im Serum vorhanden, so sind bei schwacher Wirkung die Glucosazonnadeln bewachsen, d. h. an

ihnen haften und auch zwischen ihnen liegen kleine, stark lichtbrechende Kügelchen, die, wenn sie größer sind, sich als aus kleinen Nadeln bestehend erweisen. Bei noch stärkerer Wirkung wird die Menge der Glucosazonkrystalle geringer und statt ihrer hat man undeutlich krystallinische Kugeln (s. d. Tafel, Photogramm 1) oder Sterne, die aus schwefelgelben durchsichtigen dünnen Plättchen bestehen, die, von der Kante gesehen, wie Nadeln erscheinen.

Der aus etwa 8 ccm der Lösung gewonnene Osazonniederschlag wird abfiltriert, mit wenig Wasser gewaschen, durch Ausbreiten des Filters auf Filtrierpapier vom größten Teil der Mutterlauge befreit, in das erste Reagensglas zurückgebracht, mit 5 bis 6 ccm Wasser zum Sieden erhitzt und filtriert. Unlöslich bleibt Glucosazon. Scheidet sich aus dem Filtrat schon während des Filtrierens ein Niederschlag ab, so wird er durch gelindes Erwärmen wieder in Lösung gebracht und nach einiger Zeit mikroskopiert. Man erhält dann auch aus Niederschlägen, in denen man vorher nur stark lichtbrechende, amorphe Kugeln sah, Kugeln, die deutlich aus Nadeln bestehen oder aus gelben Plättchen zusammengesetzte Sterne (s. d. Taf., Photogramm 2, 3, 4, 6).

Da diese Sterne weder Maltosazon noch Lactosazon entsprachen, so war ich lange im unklaren darüber, was für einem Zucker sie angehörten, bis sich herausstellte, daß sie sich in Gemischen von Lactose und Galaktose bilden. Es war dies auffallend, da Galaktosazon in heißem Wasser nur sehr wenig löslich ist. Man kann sich aber leicht durch Untersuchung von Gemischen aus Milchzucker und Galaktose davon überzeugen, daß man je nach dem Verhältnis beider Zucker Osazonniederschläge von demselben Aussehen und demselben Verhalten beim Umkrystallisieren erhält, wie aus den durch Rohrzuckerserum umgewandelten Rohrzuckerlösungen.

Unmöglich ist es auch, das Galaktosazon zu erkennen, wenn es aus Gemischen mit Traubenzucker zusammen mit Glucosazon ausfällt. Schon das reine Galaktosazon ähnelt, wenn es aus verdünnteren Lösungen abgeschieden wird, dem Glucosazon; läßt sich aber doch durch die Anordnung und besonders durch das gelbe, durchsichtige Aussehen der langen schmalen Plättchen — bei Ausscheidung aus konzentrierteren Lösungen ohne weiteres — von Glucosazon unterscheiden.

Zum Nachweis der Galaktose bewährte sich „v. Brauns Reagens“, das Diphenylmethandimethyldihydrazin[1]). Aus dem mit ihm erhaltenen Hydrazon läßt sich durch Zerlegen mit Formaldehyd die Galaktose rein darstellen (s. u. S. 56).

Zur Prüfung auf Galaktose bzw. Lactose diente ferner die Oxydation mit Salpetersäure zu Schleimsäure. Auch kleine Mengen dieser Zucker lassen sich hierdurch in Zuckergemischen und auch im Harn leicht nachweisen.

1. Umwandlung von Rohrzucker, Lävulose und Dextrose in Galaktose und Lactose.

Versuch 1. Serum von Kaninchen XXV. 29. X. 14.

10 ccm Serum werden mit 5 g Rohrzucker, 50 g Wasser und Toluol in den Wärmeschrank gestellt.

Unmittelbar nach der Mischung wird 1 ccm mit 9 ccm Wasser gemischt und mit essigsaurem Eisen enteiweißt. $\alpha + 26'$. Beim Erhitzen mit essigsaurem Phenylhydrazin geringe Menge von Glucosazon.

5. XI. 14 ebenso untersucht, $\alpha + 1^0 20'$. Osazon: Kugeln z. T. amorph, z. T. aus stärker lichtbrechenden Nadeln bestehend. Aus heißem Wasser, Sterne aus Nadeln bzw. langen dünnen Plättchen z. B. mit amorphem Zentrum.

Die Hauptmenge wird unter Zusatz von etwas Essigsäure koaguliert, filtriert, auf dem Wasserbade vorsichtig eingedampft und nach Zusatz von etwas Alkohol ins Kühle gestellt.

Krystallmasse 0,5 auf 50. $\alpha + 32'$ (1,01 % Lactose). 10 Fehling reduziert von 6,5 ccm (1,04 % Lactose). Osazon nach dem Umkrystallisieren aus heißem Wasser s. Tafel Fig. 5.

4 bis 5 g werden in 50 Wasser gelöst und mit 25 Tropfen konz. Schwefelsäure im kochenden Wasserbade erhitzt. $CaCO_3$ usw. Ausbeute ca. 0,8 g Zucker. 0,4369 mit Wasser auf 14,5. α alsbald nach der Lösung $+ 3^0 43'$, am folgenden Tage $2^0 27'$, ebenso nach dem Kochen. $[\alpha]D + 81,0$ Osazon: reines Galaktosazon. — Die sirupöse Mutterlauge wird in Wasser gelöst. Starke Seliwanoffsche Probe, α im 2 dm-Rohr $+ 1^0 39'$. 10 Fehling reduz. von 4,5 ccm. Anscheinend Gemenge von Dextrose, Galaktose und Lävulose.

Die Krystallmasse bestand also aus Milchzucker, dem noch etwas Rohrzucker und Galaktose beigemengt war.

Mutterlauge. 1. Eine kleine Probe wird mit 0,5 g von Brauns Reagens (nicht ganz rein), das in 0,4 ccm 50 %iger Essigsäure und wenig Alkohol gelöst war, auf kochendem Wasserbade erhitzt. Nach einigen Minuten reichlicher, etwas gallertiger Niederschlag, abfiltriert, mit Alkohol gewaschen, im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet, gelbbraun.

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 43, 1501, 1910.

Schmp. 174 bis 175° (statt 185°) N 10,0% berechnet für Galaktosehydrazon 9,65%.

2. Probe mit essigsaurem Phenylhydrazin erhitzt: glucosazonähnliche Krystalle, „bewachsen“, aus heißem Wasser nicht einheitlich, Sterne aus ungleich großen Nadeln.

3. Mit Wasser verdünnt α + 1° (1,2% Galaktose) 10 Fehling reduziert von 6 ccm (1,1% Galaktose).

4. Etwa 1,1 g des Sirups mit 12 ccm konz. Salpetersäure. 0,2093 g Schleimsäure [Schmp. 218 bis 219? Pyrrolreaktion, optisch inaktiv].

5. Rest mit 50 Wasser, 2 g Hefe und einigen Tropfen 10%iger alkoholischer Thymollösung 4 Stunden in der Wärme, mit essigsaurem Blei, Filtrat mit H_2S, Filtrat zum Sirup, erstarrt im Kühlen krystallinisch, mit verdünntem Alkohol (1 Wasser : 2 Alk.) angerührt, abgesaugt, gewaschen.

a) Zucker 0,5471 g in 14,5 ccm Wasser gelöst α + 4° 18′, am folgenden Tage + 2° 37′ $[\alpha]_D$ + 69,5. (Galaktose und Dextrose?)

b) Mutterlauge verdünnt α + 29′ (0,6% Galaktose) 10 Fehling reduz. v. 6,3 ccm (1,7% Galaktose). Gärung im Lohnstein schnell 0,15 bis 0,2% Traubenzucker, dann sehr langsame Nachgärung innerhalb 24 Stunden 0,8%, nach 36 Stunden 1,2%.

Die Mutterlauge enthält also Galaktose, dem Milchzucker und Rohrzucker, sowie Dextrose und Lävulose beigemengt sein konnten.

Versuch 2. Serum vom Kaninchen XXXVIII.

A. 28. III. 15. 4 ccm Serum, 4 g Rohrzucker, 25 Wasser, Toluol, am 1. IV. mit 15 Wasser verdünnt.

22. IV. Die Flüssigkeit reagiert auf Lackmus ganz schwach sauer. Das Eiweiß koaguliert beim Erhitzen auf dem Wasserbade. Zur völligen Abscheidung wird noch eine kleine Menge stark verdünnter Essigsäure zugegeben und dann etwas Calciumcarbonat. Die Flüssigkeit filtriert durch Faltenfilter klar. Auf Wasserbad zum Sirup eingedampft, mit wenig Milchzucker geimpft, erfolgt bald Krystallisation. Der Krystallbrei wird mit wenig verdünntem Alkohol (1 Wasser, 2 Alkohol) angerührt, abgesaugt und gewaschen. Ausbeute 2,2 g. $[\alpha]_D$ + 50,2, Osazon in heißem Wasser vollkommen löslich, nur Lactosazon. Aus Wasser umkryst. [α] + 51,5°. Es hatte sich also in großem Umfang Milchzucker gebildet.

B. 28. III. 15. 4 ccm Serum, 4 g Lävulose, 28 Wasser, Toluol, am 1. IV. mit 25 ccm Wasser verdünnt.

Wie Rohrzucker. α — 4° 5′ (4,4% Lävulose). Gärung 6,3% „Traubenzucker“ 1 : 5 verdünnt 10 Fehling 2,85 ccm (8,75% Traubenzucker).

Probe der unverdünnten Lösung gibt bei der Oxydation mit Salpetersäure eine kleine Menge Schleimsäure.

1 : 5 verdünnt: Anscheinend nur Phenylglucosazon.

Der nach dem Eindampfen erhaltene Sirup trübt sich beim Stehen durch Krystallisation. Es wird mit Alkohol erwärmt, heiß vor der Pumpe filtriert und mit warmem Alkohol nachgewaschen.

Ausbeute 1,7 g, mit heißem verdünnten Alkohol (1 Wasser, 2 Alkohol) behandelt.

a) unlöslich bzw. sich beim Erkalten bald ausscheidend: mit Salpetersäure Schleimsäure, Osazon in heißem Wasser löslich, teils geschwungene Nadeln, teils Plättchen (Gemisch von Lactosazon und Galaktosazon).

b) 0,8 scheiden sich beim Stehen der alkoholischen Lösung krystallinisch aus. $[\alpha]_D + 55{,}9^0$, Osazon in heißem Wasser löslich. Kugeln aus geschwungenen Nadeln und homogene Grundmasse. Überwiegend Lactose. Mutterlauge dreht links, wesentlich Glucosazon.

Also Bildung von Lactose und Galaktose aus Lävulose.

C. 28. III. 15. 4 ccm Serum, 4 g Dextrose, 25 Wasser, Toluol, am 1. IV. 15 mit 25 ccm Wasser verdünnt.

22. IV. wie oben.

$\alpha + 3^0 17'$ (6,3 %$_0$ Traubenzucker), 1 : 10 verdünnt, 10 Fehling reduziert von 6,7 ccm (7,5 %$_0$ Traubenzucker), Gärung 5,6 %$_0$ Traubenzucker, 10 ccm mit 15 ccm konz. Salpetersäure, Schleimsäure.

„Glucosazon“ und Kugeln bzw. Plättchen, die in heißem Wasser löslich sind und beim Erkalten in Kugeln bzw. aus Plättchen bestehenden Sternen sich wieder ausscheiden.

Zum Sirup eingedampft. Krystallisation, abgesaugt, mit verdünntem Alkohol gewaschen.

3,3 g Krystalle. $[\alpha]_D + 52{,}8^0$, Osazon bis auf eine geringe Trübung in heißem Wasser löslich. Beim Erkalten Sterne aus stark lichtbrechenden Nadeln und gelben Plättchen.

Ergebnis: Bildung von Milchzucker und Traubenzucker.

Versuch 3. Serum von Kaninchen XXII.

1. X. 14. 12 ccm Serum, 12,5 g Lävulose, 75 ccm Wasser, 10 Tropfen Toluol.

8. X. mit wenig sehr verdünnter Essigsäure im Wasserbade erhitzt, filtriert, zum Sirup eingedampft, heiß mit Alkohol gefällt, Niederschlag wiederholt mit 94 %$_0$ igem Alkohol ausgekocht.

A. Alkoholfällung, in wenig Wasser unter Erwärmen gelöst, im Kühlen Krystallisation.

a) Krystalle. 4,75 g. 0,5425 g in 14,5 ccm, α im 1 Dez.-Rohr $+ 2^0 7'$ $[\alpha]_D + 51{,}5$. Etwa 0,5 : 50. $\alpha + 34'$ (1,07 Milchzucker), 10 Fehling reduziert von 6,8 ccm (1 %$_0$ Milchzucker). Osazon: Kugeln aus sehr feinen, zum Teil gebogenen Nadeln und sehr feinen, langen schmalen Plättchen.

b) Durch Zusatz von Alkohol zur Mutterlauge Fällung ähnlich wie a) 2,5 g.

a) und b) vereinigt, aus verd. Alkohol umkristallisiert, reine Lactose.

c) Alkoholische Lösung, nichtkrystallisierender Sirup. In Wasser gelöst $\alpha + 26'$ (0,8 %$_0$ Traubenzucker). 10 ccm Fehlingsche Lösung reduziert von 4,2 ccm (1,2 %$_0$ Traubenzucker). Osazon: reines „Glykosazon“, also Dextrose (Galaktose?) und Lävulose.

B. Alkoholische Lösung.

a) Beim Stehen im Kühlen scheiden sich noch 0,5 g krystallinisch ab.

b) Von der alkoholischen Lösung gibt eine Probe beim Erhitzen mit von Brauns Reagens keine Fällung. Der Alkohol wird verdunstet und der Sirup in Wasser gelöst. $\alpha - 28'$. 10 ccm Fehling reduziert von 1 bis 1,5 ccm, nur Glucosazon, also wahrscheinlich Lävulose und Dextrose.

Die Fraktionen Ia, Ib und Ic werden vereinigt, mit der 10 fachen Menge Alkohol erhitzt und mit Wasser unter weiterem Erwärmen bis zur Lösung versetzt. Der sich beim Erkalten ausscheidende Zucker liefert ein ganz einheitliches Osazon, das Kugeln bildet, die aus feinen gebogenen Nadeln bestehen.

Ergebnis: Aus Lävulose Milchzucker, anscheinend auch kleine Mengen Galaktose und Dextrose.

2. Versuche von T. Kumagai: Umwandlung von Dextrose in Lävulose.

1. Versuch vom 15. III. 13. Hund XV.

10 ccm Serum mit 10 ccm 5 % iger Traubenzuckerlösung.

a) sofort 2 ccm mit 10 ccm Wasser verdünnt und mit essigsaurem Eisen enteiweißt, $\alpha + 12'$,

b) nach 15 Stunden ebenso $- 15$,

c) nach 48 Stunden $- 20'$; starke Seliwanoffsche Probe, typisches Glucosazon, vergärt mit Hefe vollständig.

2. Versuch vom 2. V. 13. Kaninchen VI, „passiv immunisiert“.

5 ccm Serum mit 5 ccm 5 % iger Traubenzuckerlösung.

a) Probe sofort 3 fach verdünnt usw.,
$\alpha + 22'$. 10 ccm Fehling reduziert von 12,1 ccm.

b) Probe nach 24 Stunden doppelt verdünnt,
$\alpha - 1^{0} 25'$. 10 ccm Fehling reduziert von 10,1 ccm.

3. Versuch vom 12. III. 13. Kaninchen XI.

25 ccm Serum mit 25 ccm 5 % iger Traubenzuckerlösung.

12. III. sofort 2 ccm mit 10 Wasser, enteiweißt $\alpha + 13'$.

14. III. $\alpha \pm 0,0$.

17. III. $\alpha - 45'$ (für 0,42 % Lävulose berechnet im 1 dm-Rohr $- 23'$).

Am 18. III. wird der Rest mit 100 ccm Wasser verdünnt und mit 3 ccm $^{n}/_{10}$-Schwefelsäure gegen Lackmoidpapier neutralisiert, im Wasserbade erhitzt und filtriert. Das Filtrat wird auf dem Wasserbade vorsichtig zum Sirup eingedampft und dieser mit 94 % igem Alkohol aufgenommen. Unlöslich bleibt eine teigige Masse, die nach dem Lösen in Wasser rechts dreht. Die alkoholische Lösung dreht links. Sie wird verdampft. Der sirupöse Rückstand wird in 5 ccm Wasser gelöst und mit 2 ccm 50 % iger Essigsäure und 2 g reinem Methylphenylhydrazin im kochenden Wasserbade erhitzt. Nach 5 Minuten tritt Krystallisation

von feinen, langen gelben Nadeln ein. Die Masse wird abgesaugt und 3 mal aus heißem Alkohol unter Zusatz von Wasser umkrystallisiert, abgesaugt, mit 10 %igem Alkohol und mit Äther gewaschen. Im Vakuum getrocknet. Schmp. 156 bis 160°.

Für Methylphenylosazon ber.: 62,18 % C, 6,7 % H, 14,5 % N.
gef.: 61,6 % C, 6,9 % H, 14,7 % N.

0,2 g in 4 ccm Pyridin und 6 ccm Alkohol drehen im 1 Dez.-Rohr + 1° 8′.

4. Versuch vom 19. V. 13. Hund XV.

100 ccm Serum mit 100 ccm 10 %iger Traubenzuckerlösung. 2 ccm mit 10 ccm Wasser verdünnt, sofort enteiweißt α im 1 Dez-Rohr + 20′, nach 24 Stunden — 50′, nach 2 mal 24 Stunden ± 0,0. Die Lösung wird jetzt mit Wasser verdünnt, für Lackmoid neutralisiert, im Wasserbade erhitzt und filtriert, der Niederschlag mit Wasser gewaschen. Von den 360 ccm des Filtrats werden 200 ccm zum Sirup eingedampft. Der Sirup krystallisiert nach dem Vermischen mit Methylalkohol. Die Ausbeute von krystallisiertem Zucker („Disaccharid") beträgt 5,1 g.

Die methylalkohollösliche Mutterlauge dreht stark links. Sie wird zum Sirup eingeengt; beim Stehen über Schwefelsäure keine Krystallisation. Etwa die Hälfte wird in 50 ccm Wasser gelöst. α — 2° 30′. Die Lösung wird abgekühlt und mit fein pulverisiertem Calciumhydroxyd verrührt. Es bildet sich eine teigige Masse, die aus mikroskopisch feinen Nadeln besteht, sie wird abgesaugt und mit eiskaltem Wasser gewaschen.

Der Calciumniederschlag wird abgesaugt und mit verdünnter Schwefelsäure genau neutralisiert. Das Filtrat des schwefelsauren Kalkes, 200 ccm, dreht — 45′. Es wird eingeengt und mit Alkohol aufgenommen. Die alkoholische Lösung wird filtriert, eingeengt und mit Lävulose geimpft. Nach 10 Tagen hat sich eine zähe, halb krystallinische, aus mikroskopischen, durchsichtigen, feinen Täfelchen bestehende Masse gebildet, etwa 1,8 g. Sie wird in Wasser gelöst, auf 25 ccm aufgefüllt und filtriert. α im 1 dm-Rohr — 4° 25′, entsprechend 4,7 % Lävulose. Eine Probe im Lohnstein vergärt gibt 5 %. Nach 8 facher Verdünnung reduzieren 7,5 ccm 10 ccm Fehlingsche Lösung, entsprechend 0,66 % Zucker oder für die unverdünnte Lösung 5,2 %. 10 ccm werden im Wiegegläschen abgedampft und der Rückstand bei 100° im Luftbad getrocknet, 0,54 g. Glucosazon, starke Seliwanoffsche Probe. Der Calciumniederschlag enthielt also wesentlich Lävulose, infolge des schwierigen Auswaschens der Calciumfällung vielleicht noch mit etwas Dextrose verunreinigt. Jedenfalls beweist der Versuch die Bildung von Lävulose aus Dextrose.

Es geht auch aus diesen Versuchen einwandfrei hervor, daß durch Sera, die nach intravenöser Einspritzung großer Mengen von Rohrzucker bei Hund und Kaninchen unter gewissen Bedingungen gewonnen werden, nicht nur der Rohrzucker in Dextrose und Lävulose gespalten wird, sondern auch

aus Dextrose und Lävulose und aus dieser vermutlich über Galaktose Milchzucker entsteht.

Die Spaltung des Rohrzuckers ist bekanntlich die Wirkung eines Enzyms. Wie kommen aber die weiteren Umwandlungen zustande? Es kann sich auch hierbei kaum um etwas anderes handeln als um die Wirkung neuer, bisher unbekannter Enzyme. Die Umwandlung der Dextrose in Lävulose hat ihr Gegenstück in der Umwandlung von Lävulose in Dextrose, die, wie S. Isaac[1]) im Laboratorium Embdens fand, erfolgt, wenn man Lävulose einer Aufschwemmung von roten Blutkörperchen in Ringerscher Lösung zusetzt und diese durch überlebende Hundelebern leitet. Isaac weist auf die Ähnlichkeit hin, die zwischen seinen Versuchen und der bekannten Beobachtung von Lobry de Bruyn und A. van Ekenstein besteht, nach denen kleinste Mengen Alkali in einer Lösung von d-Glucose, d-Fructose und d-Mannose einen Gleichgewichtszustand zwischen diesen drei Zuckern erzeugen, gleichgültig, von welchem dieser Zucker man ausgeht. Er betont aber andererseits den wesentlichen Unterschied, der darin besteht, daß im Gegensatz zur Wirkung des Alkalis die Umlagerung von Lävulose in Dextrose schnell und vollständig geschieht. Dasselbe gilt offenbar auch für unsere Beobachtungen. Nach Isaacs bisheriger Auffassung ist die Umwandlung der Lävulose in Dextrose eine Zellfunktion. Das ist insofern sicher zutreffend, als die Bildung der Dextrose aus Lävulose in jenen Versuchen nicht in der Durchströmungsflüssigkeit allein stattfand, sondern der Mitwirkung der Leberzellen bedurfte. Es ist aber nach unseren Beobachtungen wahrscheinlich, daß ebenso wie die Bildung von Lävulose aus Dextrose, so auch der umgekehrte Vorgang rein enzymatischer Natur und nicht an das „Leben“ der Zellen gebunden ist.

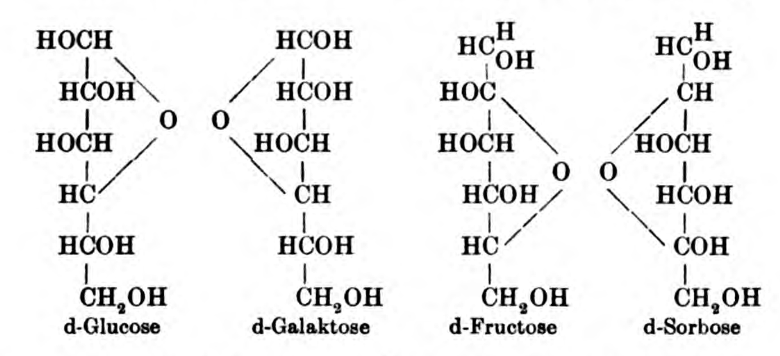
Ein weiterer hierher gehöriger Vorgang ist der von G. Embden und W. Griesbach[2]) beobachtete Übergang von d-Sorbose in d-Glucose in der Leber beim Durchblutungsversuch.

Betrachten wir diese Umwandlungen an der Hand der Konfigurationsformeln

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 78, 1913.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 91, 251, 1914.



im Zusammenhang mit dem Übergang von d-Glucose in d-Galaktose, so sehen wir, daß diesen Vorgängen insofern etwas Gemeinsames zugrunde liegt, als sich unter dem Einfluß eines Fermentes der Aufbau des Zuckers dadurch ändert, daß bei erhaltenem Kohlenstoffgerüst eine teilweise Umlagerung von H, OH bzw. O = innerhalb des Moleküls stattfindet.

Für diese neuen Fermente schlage ich den Namen „Stereokinasen“ vor. Die besondere Wirkung kann man andeuten durch die Bezeichnung des betreffenden Ausgangs- und Endkörpers. Als d-Fructo-d-Galaktokinase, kann man das Ferment bezeichnen, durch das d-Fructose in d-Galaktose übergeführt wird. Entsprechend kann man von einer d-Sorbo-d-Glucokinase, d-Gluco-d-Fructo- und d-Fructo-d-Glucokinase reden.

Schon jetzt deutet manches darauf hin, daß Stereokinasen auch in der Eiweißchemie eine Rolle spielen. Bei der „Aktivierung“ von Fermenten, wie sie z. B. bei der Wirkung der „Enterokinase“ auf Trypsinogen erfolgt, könnte man an eine Aktivierung durch Umlagerung innerhalb des Zymogenmoleküls denken.

Zur Bildung der Lactose aus d-Galaktose und d-Glucose gehört nun noch die Wirkung eines weiteren Enzyms, das diese beiden Hexosen miteinander verkuppelt. Chemisch hat dieser Vorgang sein Seitenstück in der Glucosidbildung. Es sind auch eine Anzahl Beobachtungen bekannt, nach denen auf fermentativem Wege derartige Synthesen zustande kommen. So entsteht durch Einwirkung eines Hefefermentes aus Traubenzucker nach A. Croft Hill[1]) Maltose bzw. nach O. Emmer-

[1]) Transact. of the Chem. Soc. 1898, 634.

ling[1]) Isomaltose u. a. und H. Beitzke und C. Neuberg[2]) konnten durch ein „Antiemulsinserum" ein Disaccharid aus Traubenzucker und Galaktose erzeugen. Bezeichnet man mit Euler die synthetisierenden Fermente durch Anhängen der Endung ese an den gebildeten Körper, so hätten wir es im vorliegenden Falle mit einer Galaktosidoglucese oder einer Lactese zu tun.

Die fermentative Synthese des Milchzuckers, wie wir sie bei der Einwirkung des Rohrzuckerserums auf Lävulose beobachtet haben, hat, wie hier hervorgehoben werden soll, auch deswegen ein besonderes Interesse, weil sie darauf hinweist, daß die Bildung von Milchzucker in der Milchdrüse ein rein enzymatischer Vorgang ist, der nicht notwendig an die „Lebenstätigkeit" der Zellen gebunden zu sein braucht.

III. Über das Vorkommen von Galaktose und Lactose im Harn nach Einspritzung von Rohrzucker und Lävulose in die Vene.

Wenn Hunden oder Katzen einmal eine größere Menge von Rohrzucker — 1 bis 2 g auf das Kilo Körpergewicht — intraperitoneal oder subcutan eingespritzt wird, so wird nach Versuchen von L. B. Mendel und J. S. Kleiner[3]) nicht, wie man nach Beobachtunngen von F. Voit[4]) u. a. bisher annahm, der Rohrzucker vollständig, sondern nur zu etwa 65 $^0/_0$ wieder durch den Harn ausgeschieden. Ähnliche Beobachtungen machten auch G. Jappelli und D'Errico[5]), die sich diese Erscheinung so erklären, daß der parenteral zugeführte Rohrzucker zu einem entsprechenden Teil durch Speicheldrüsen, weniger durch die Leber in den Darm ausgeschieden, dann wieder resorbiert, hierbei invertiert und so der Verbrennung zugängig wird. Notwendig ist die Ausscheidung in den Darm hinein aber nicht. Denn es ist möglich, daß der parenteral eingeführte Rohrzucker auch von der Blut- oder Lymphbahn aus mit den invertinhaltigen Darmzellen in Berührung kommt.

[1]) Ber. d. Deutsch. chem Ges. **34**, 600, 2206, 1901.

[2]) Virchows Archiv **183**, 169, 1906.

[3]) The American Journ. of Physiol. **26**, 396, 1910.

[4]) F. Voit, Arch. f. klin. Med. 58, 523, 1897. — Zeitschr. f. Biol. **51**, 491, 1908.

[5]) Maly, Jahresber. d. Tierchemie. **35**, 79, 1905.

Auf jeden Fall ist es von Interesse, daß zu einer Zeit, wo nach unseren Beobachtungen kein Invertin im Blute nachweisbar ist — auch L. B. Mendel und Kleiner konnten keines finden — eine gewisse Menge Rohrzucker im Stoffwechsel verschwindet.

Der nach der ersten einmaligen Injektion ausgeschiedene Zucker ist im wesentlichen Rohrzucker. Nur gelegentlich beobachteten Mendel und Kleiner das Auftreten einer linksdrehenden Substanz in geringer Menge, über deren Natur sie nichts Sicheres ermitteln konnten. Angaben über die Ausscheidung von kleinen Mengen Invertzucker neben Rohrzucker sind aber schon früher gemacht worden. Sie sind jedoch nicht ganz einwandfrei, da bei solchen Versuchen vielleicht nicht genügend beobachtet worden ist, daß in dem Harn, wenn er nicht unter Zusatz eines geeigneten Antisepticums aufgefangen wird, nachträglich eine Inversion von Rohrzucker durch bakterielle Wirkungen stattfinden kann.

Bei der Prüfung mit der Trommerschen Probe fand ich selbst im Harn der Hunde nur mehr oder weniger starke „Nachreduktion“. Der Ausfall der Glucosazonprobe gab bei Anwesenheit von Rohrzucker meist nur ein geringes Sediment von Glucosazon. Aber auch auf dieses ist wenig Wert zu legen, da sich, wie bereits oben erwähnt, bei längerem Erhitzen von reinen Rohrzuckerlösungen mit essigsaurem Phenylhydrazin Glucosazon abscheidet.

Wie aber verhält sich der Harn bei fortgesetzten oder wiederholten Injektionen von Rohrzucker?

Nach längerer, fortgesetzter Injektion großer Zuckermengen glaubte Weinland in seinen Versuchen an jungen Hunden, deren Serum, wie oben erwähnt, auch invertinhaltig war, gefunden zu haben, daß die Rohrzuckerausscheidung ab-, die Assimilation also zugenommen habe. Die Versuche sind aber nicht überzeugend. Denn erstens war die Aufsammlung des Harns mindestens in dem einen von den zwei Versuchen keine quantitative, und dann war die Untersuchung nur eine polarimetrische; es konnte also ein Teil des Zuckers, sei es im Körper, sei es nachträglich, invertiert worden sein. Im übrigen fußt Weinland auf der durch die erwähnten Versuche von Mendel und Kleiner als unzutreffend erwiesenen Annahme, daß unter

normalen Verhältnissen der parenteral zugeführte Rohrzucker quantitativ im Harn ausgeschieden werden müßte.

E. Abderhalden und G. Kapfberger[1]) spritzten einem Hunde (von ca. 10 kg) täglich 20 ccm einer 5 $^0/_0$igen Rohrzuckerlösung, also nur eine kleine Menge von Rohrzucker ein. „Es ergab sich, daß nach der erstmaligen Injektion der Harn beträchtlich nach rechts drehte. Nach 11 bis 12 Stunden drehte der Urin etwas nach links; am 2. Tage war das Verhalten ein ähnliches, am 3. und 4. Tage war bereits nach 9 Stunden eine Linksdrehung vorhanden." In dem einzigen zum Belege mitgeteilten Versuche werden nur die Zahlen, die für den Rohrzucker berechnet waren, mitgeteilt; also nur die Rechtsdrehung wird berücksichtigt. Da der Harn „außerdem ein geringes Redutionsvermögen aufwies, können die Zahlen keinen Anspruch auf absolute Genauigkeit machen". Nimmt man die Zahlen wie sie sind, so würden nach Injektion von 1 g Rohrzucker bei einem Hunde von 7,9 Kilo 0,09 g am 1., 0,08 g am 2. und 0,06 g am 3. und 4. Tage ausgeschieden worden sein. Ein Hund von dieser Größe vermochte aber nach den Versuchen von Mendel und Kleiner schon bei der ersten Injektion gegen 7 g Rohrzucker zu verbrennen. Eine Assimilation von 1 g Rohrzucker bewirkt also nicht, daß während der Rohrzuckereinspritzung die Assimilationsgröße für Rohrzucker zunimmt, was Abderhalden übrigens auch gar nicht ausdrücklich behauptet.

Auch die Angabe über die geringe Linksdrehung beweist wenig für das Vorhandensein von Invertin im Blut des betreffenden Versuchstieres.

Nach L. B. Mendel und J. S. Kleiner vermögen wiederholte intraperitoneale Injektionen von Rohrzucker bei Hunden und Katzen die Assimilation des Rohrzuckers nicht zu steigern.

Die Angaben von Weinland veranlaßten auch T. Kumagai und mich, unsere Aufmerksamkeit dem Harn zuzuwenden, aber nicht nur mit Rücksicht auf die Frage, ob sich unter dem Einfluß der parenteralen Zuckereinspritzung die Assimilation des Zuckers ändert, sondern weil auch zu erwarten war, daß mit dem Auftreten der von uns entdeckten Fermente die Eigen-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **69**, 27, 1910.

schaften des im Harn zur Ausscheidung gelangenden Zuckers sich änderten.

T. Kumagai fand nun tatsächlich, daß bei einem mit Rohrzucker vorbehandelten Hunde der Harn nach der zweiten Rohrzuckerinjektion stark links drehte und Lävulose enthielt. Das Serum dieses Hundes spaltete Rohrzucker und verwandelte Dextrose in Lävulose.

Von den 4 Hunden, an denen ich meine Versuche anstellte, zeigte keiner ein gleiches Verhalten, wie ja auch bei keinem das Blut dieselben Fermentwirkungen wie bei dem Hunde Kumagais besaß.

Nur bei Hund II reduzierte der Harn nach der zweiten Rohrzuckerinjektion am 9. IV. 14 stark, gab reichliche Abscheidung von Glucosazon und am folgendem Tage auch sehr geringe Mengen von Galakto-Lactosazon. Im Blut war kein Invertin nachweisbar. Nach einer weiteren Rohrzuckerinjektion, wo im Blut sicher Invertin vorhanden war, reduzierte der Harn stark, etwa wie eine 1 $^0/_0$ige Traubenzuckerlösung, drehte aber rechts. Er konnte neben Rohrzucker Lävulose enthalten. Nach einer späteren Injektion (am 6. IX. 14) reduzierte der Harn ebenfalls und bildete ein reichliches Sediment von Galakto-Lactosazon. Jetzt wirkte das Blut, wenn auch nicht stark, in entsprechender Weise auf Rohrzucker und Lävulose.

Der Harnbefund bei Hunden stand also, wie zu erwarten war, in einem gewissen Einklang mit dem Serumbefund.

Noch deutlicher war dies der Fall bei Kaninchen. Hier war der Harnbefund ebenso wie der Blutbefund ein sehr verschiedener.

In der Mehrzahl der Fälle verhielt sich der Harn der Kaninchen wie der der Hunde. Der Harn drehte rechts, zeigte nur eine mehr oder weniger starke Nachreduktion und gab beim Erhitzen mit essigsaurem Phenylhydrazin ein geringes Sediment, das neben amorphen Massen mehr oder weniger typische Glucosazonkrystalle enthielt. Berechnete man auf Grund der ausschließlich vorhandenen Rechtsdrehung die Menge des ausgeschiedenen Rohrzuckers, so ergab sich in den meisten Fällen ein ähnliches Resultat, wie es Mendel und Kleiner bei Hunden und Katzen fanden. Stets wurde nur ein Teil des injizierten Zuckers durch den Harn ausgeschieden. In einer

Reihe von Fällen blieb das Verhältnis zwischen eingeführtem und ausgeschiedenem Zucker dasselbe, auch als nach gewissen Zeiträumen, innerhalb deren sich ein Ferment hätte bilden können, aber tatsächlich nicht gebildet hatte, von neuem Rohrzucker eingespritzt wurde. In diesen Fällen zeigte sich auch keine Änderung in bezug auf das Reduktionsvermögen und das Verhalten zu essigsaurem Phenylhydrazin.

In anderen Fällen, wo nach der intravenösen Rohrzuckereinspritzung Invertin und Stereokinasen im Blute erschienen, änderte sich auch der Harnbefund. Jetzt waren auch im Harn neben Rohrzucker und Lävulose Galaktose und Lactose nachweisbar.

Nachweis von Galaktose und Lactose im Harn nach intravenöser Einspritzung von Rohrzucker.

Kaninchen I. Harn vom 9. und 10. X. 13 mit essigsaurem Blei gefällt, Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit, Filtrat des Schwefelbleis zum Sirup eingeengt. Nach einiger Zeit erstarrt er krystallinisch.

A. Krystallbrei wird in Wasser gelöst; unlöslich bleiben Kalksalze. Die Lösung reduziert entsprechend 1 bis 1,2 g Traubenzucker. Sie wird eingeengt und mit 2 ccm 50 %iger Essigsäure und 2 g Phenylhydrazin erhitzt. Eine geringe Menge Harz wird abfiltriert. Beim Erkalten schollige Massen und Kugeln, die aus Nadeln bestehen, abgesaugt, mit Wasser gewaschen, unter gelindem Erwärmen in Alkohol gelöst, nach dem Abkühlen mit Wasser vollkommen gefällt, mit 50 % Alkohol gewaschen, abgesaugt und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Osazon zersetzt sich glatt bei 198 bis 199° 11,47 % N.

B. Filtrat mit Kohle behandelt. Die Hälfte, der Reduktion nach etwa 5 g Traubenzucker entsprechend, wird mit der berechneten Menge essigsaurem Phenylhydrazin erhitzt. Das Osazon enthält 11,86 % N. Beim Auskochen mit Wasser bleibt ein Teil ungelöst. Aus der Lösung scheiden sich aus Filtrat I Kugeln aus Nadeln und gelben Tafeln. Filtrat II und III nur Kugeln aus Nadeln. Beim nochmaligen Lösen von Filtrat II und III bleibt wieder ein Teil ungelöst. Das sich ausscheidende Osazon besteht nach dem mikroskopischen Verhalten überwiegend aus Lactosazon und kleinen Mengen Galaktosazon und enthält 10,81 % N.

Kaninchen II. Harn vom 20. X. 13. Vol. 103, spez. Gew. 1044, starke Nachreduktion, nur Glucosazon. $\alpha + 4^0 32'$. Für Rohrzucker würde dies einem Gehalt von 6,8 % entsprechen, Lohnsteins Gärungsapparat zeigt aber 8,6 %. Der Harn wird mit Bleiacetat gefällt, H_2S, filtriert eingeengt. $\alpha + 5^0 57'$ entspricht 8,95 % Rohrzucker. Er reduziert entsprechend 4,5 % Traubenzucker.

Die Flüssigkeit wird vergoren, mit konzentrierter Salpetersäure abgedampft, im Kühlen stehen gelassen, weißer krystallinischer Nieder-

schlag, mit Wasser gewaschen. Schleimsäure: Schmp. 213 bis 214°. Probe mit Ammoniak abgedampft. Pyrrolreaktion.

Harne von Kaninchen III und IV vgl. die Protokolle.

Vereinigte Reste des Harns werden mit Bleiacetat gefällt, mit H_2S entbleit, Filtrat eingeengt und mit Alkohol extrahiert.

A. Das in Alkohol Unlösliche wird noch einmal in wenig Wasser gelöst und mit Alkohol bis zur beginnender Trübung versetzt.

a) Der sich abscheidende Sirup bleibt sirupös, reduziert, Osazon: Kugeln aus schwefelgelben Plättchen.

b) Aus der alkoholischen Lösung scheiden sich beim Stehen 4,5 g krystallinischer Zucker aus, Lactose.

1,004 g in 14,5 ccm frisch gelöst, $\alpha + 4^0 41'$, nach 24 Stunden $+ 3^0 30'$ $[\alpha]_D + 50,7^0$.

Mutterlauge der Krystalle gibt mit v. Brauns Reagens keine Fällung, enthält also keine Galaktose mehr.

B. Der Rückstand des Alkoholextraktes mit der berechneten Menge essigsaurem Phenylhydrazin erhitzt. Osazon: Lacto-Galaktosazon.

Kaninchen VI und VIII s. Prot.

Kaninchen VII s. Prot.

Harn von 15. XI. mit Kohle entfärbt, reduziert Fehlingsche Lösung nicht unmittelbar. Geringes Sediment von Glucosazon und Lactosazon. α im 1 Dez.-Rohr $+ 2^0 24'$ (3,6 %Rohrzucker), nach der Gärung im Lohnstein 4,4 % Traubenzucker.

19. XI. Beim Erhitzen mit essigsaurem Phenylhydrazin keine Abscheidung, nach dem Erkalten neben kleinen Kugeln auch solche von schwefelgelben Sternen.

$\alpha + 2^0 36'$ (3,8 % Traubenzucker). Gärung nach 3 Stunden 3 % Traubenzucker. 75 ccm Harn werden eingedampft, der Rückstand wird mit 15 ccm konzentrierter Salpetersäure auf dem Wasserbade erhitzt, dann mit weiteren 15 ccm konzentrierter Salpetersäure in ein Bechergläschen hinübergespült und in diesem eingeengt. Reichlicher Niederschlag, mit Wasser gewaschen, in verdünnter Natronlauge gelöst, mit Salpetersäure übersättigt, ins Kühle, Niederschlag auf Filter gesammelt, 0,247 g Schleimsäure (Schmp. 213 bis 214°. Pyrrolreaktion des Ammoniaksalzes).

Kaninchen XI. Harn vom 22. und 23. I. Osazon schwefelgelbe, dünne Plättchen.

Harn vom 22. I. 14. mit essigsaurem Blei gefällt, H_2S, Filtrat von PbS zum dünnen Sirup und Alkohol.

a) Harzige Fällung in Wasser gelöst, reduziert stark, 20 ccm mit Kohle behandelt, reduziert stark, 1 : 4 verdünnt, $\alpha + 1^0 2'$, 5 ccm mit v. Brauns Reagens, nur geringer flockiger Niederschlag, Rest mit essigsaurem Phenylhydrazin, reichlich gelbe, in heißem Wasser lösliche Tafeln.

b) Alkoholische Lösung. Die sich ausscheidenden sirupösen Massen mit a) vereinigt. Alkoholische Lösung verdunstet, Rückstand in Wasser gelöst. 25 ccm 1 : 4 verdünnt, $\alpha + 46'$. Mit essigsaurem Phenylhydrazin erhitzt, beim Erkalten gelbe Tafeln. Mit entsprechender Probe aus ursprünglichem Harn vereinigt, aus Wasser umkrystallisiert, schwefelgelb,

im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet, keine Reaktion mit Eisenchlorid und Schwefelsäure. Schmp. bei schnellem Erhitzen 186 bis 187°.

f. Osazon eines Disaccharids ber.: 55,4 % C, 6,1 % H. 10,77 % N;

„ „ „ „ gef.: 55,1 % C, 6,2 % H, 9,3 und 9,9 % N.

Aus den vereinigten Harnmengen von Kaninchen III und IV gelang also die Darstellung von Milchzucker. Aus dem Harn von Kaninchen II und VII wurde bei der Oxydation Schleimsäure, bei Kaninchen I fast reines Lactosazon erhalten. Im übrigen sprechen die Eigenschaften der Osazonniederschläge für die Anwesenheit eines Gemisches von Galaktosazon und Lactosazon und das Verhalten des Harns bei der polarimetrischen Untersuchung, bei Prüfung des Reduktions- und Gärvermögens ließ sich mit der Annahme, daß Lactose und Galaktose neben Rohrzucker und Lävulose vorhanden seien, vereinbaren.

Das Osazon im Harn von Kaninchen XI zeigte ein Verhalten, das über seine Natur noch keinen sicheren Schluß gestattete.

Bei Kaninchen III fallen ferner die hohen Polarisationswerte, die im Harn nach den ersten Rohrzuckerinjektionen erhalten wurden, auf (vgl. d. Protokoll). Das Blut enthielt kein Invertin und keine Stereokinasen. Ähnlich hohe Polarisationswerte fanden sich nach der zweiten Rohrzuckerinjektion bei Kaninchen I und III, wo diese Fermente im Blute vorhanden waren. Dies legt die Vermutung nahe, daß auch im ersten Stadium, als Fermente im Blute noch nicht nachweisbar waren, Rohrzucker bereits in Galaktose übergeführt wurde. Noch größer und unerklärlich sind die hohen Polarisationswerte im Harn von Kaninchen IV, dessen Blut auffallenderweise schon unmittelbar nach den ersten Rohrzuckereinspritzungen Stereokinasen enthielt.

Hohe Polarisationswerte zeigte auch der Harn von Kaninchen I nach der zweiten Rohrzuckerinjektion. Er enthielt Galaktose neben Milchzucker. Hier enthielt das Blut Stereokinasen und erteilte der Rohrzuckerlösung ein ganz besonders hohes Drehungsvermögen.

Die chemische Untersuchung des Harns bildet also eine wertvolle Ergänzung des Blutbefundes. In den einen Fällen bestätigt sie den positiven, in andern den negativen Blutbefund, erhöht also den Wert des letzteren. Eine ganz besondere Bedeutung aber gewinnt sie, wenn der Harnbefund positiv ist,

da, wo sich der Blutbefund als negativ erweist. Ein solcher Fall lag vor bei Kaninchen II. Hier wurde am 20. Tage nach den ersten Rohrzuckerinjektionen bei der Oxydation des Harns mit Salpetersäure Schleimsäure erhalten. Das Blut hatte Rohrzucker invertiert. Das Aussehen des Osazons schien aber nur auf Glucosazon hinzudeuten. Nach dem Harnbefund ist zu vermuten, daß sich auch Galaktose gebildet hatte.

Bei Kaninchen VII wurde aus dem Harn bei der Oxydation mit Sicherheit Schleimsäure erhalten, obgleich kurz vorher die Fermente im Blute nicht nachweisbar waren. Auch bei Kaninchen VI schien der Harn nach dem Aussehen der Osazone Lactose und Galaktose zu enthalten. Im Blut schienen die Fermente nicht enthalten zu sein. Ebenso wies der Harnbefund bei Kaninchen XI auf einen abnormen Zucker hin, ohne daß das Blut auf Rohrzucker einwirkte.

Unsere Beobachtungen beweisen also, daß Einführung von Rohrzucker in die Blutbahn nicht nur dazu führt, daß Fermente im Blute erscheinen, die den Rohrzucker außerhalb des Organismus in Galaktose und Milchzucker verwandeln, sondern auch, daß diese Umwandlung im Körper geschehen kann, und zwar besonders dann, wenn eine zweite Rohrzuckerinjektion erfolgt, nachdem durch vorangegangene Rohrzuckerinjektionen das Blut fermenthaltig geworden ist.

In gewissen Fällen scheint aber die Umwandlung des Rohrzuckers in Galaktose und Milchzucker im Körper zu geschehen auch ohne daß die betreffenden Fermente im Blute nachweisbar sind.

Eine ähnliche Beobachtung wurde auch bei Versuchen mit parenteraler Injektion von Lävulose gemacht. Nach der intravenösen Injektion von Lävulose waren bei Kaninchen XXX nach den ersten und bei Kaninchen XV auch nach den zweiten Injektionen kein Invertin und keine Stereokinasen im Blute nachweisbar. Bei Kaninchen XIV und XXIV enthielt das Blut am 14. bzw. 5. Tage nach den zweiten subcutanen Injektionen von Lävulose nur Invertin. Der Harn drehte in den meisten Fällen links, enthielt also Lävulose. Die gleichzeitige Bestimmung von Drehungs- und Reduktionsvermögen deutet aber bei Kaninchen XIV und XV darauf hin, daß neben Lävulose noch ein rechtsdrehender, reduzierender

Zucker vorhanden war. Nach den zweiten Injektionen drehte der Harn bei Kaninchen XV sogar stark rechts. Das Verhalten des Osazon sprach dafür, daß bei Kaninchen XV schon nach den ersten Injektionen von Lävulose neben Lävulose auch Galaktose und Laktose im Harn enthalten waren. Für Galaktose sprach weiter die Fällung, die nach den ersten, besonders aber nach den zweiten Injektionen mit v. Brauns Reagens erhalten wurden.

Wenn ich also auch nicht in meinen wenig zahlreichen Versuchen mit Lävulose wie Kumagai die Stereokinasen im Blutserum fand, so deutet doch auch bei ihnen die Untersuchung des Harns auf die Entstehung von Stereokinasen nach der intravenösen Injektion von Lävulose hin.

Versuche mit Galaktose waren bisher negativ. In keinem der beiden Versuche (Kaninchen XVI und XVII) traten die betreffenden Fermente im Blute auf. Der Harn enthielt Galaktose.

Nachweis der Galaktose im Harn von Kaninchen XVI nach der zweiten subcutanen Injektion von 3 mal 8 g Galaktose. Der Harn vom 29. und 30. IV. wurde mit essigsaurem Blei gefällt, Filtrat mit H_2S, Filtrat des PbS eingeengt mit Alkohol extrahiert. Vom Alkoholextrakt werden 45 ccm, die nach der Polarisation etwa 1 g Galaktose enthielten, mit 0,8 g v. Brauns Reagens und 0,6 ccm 50%iger Essigsäure auf kochendem Wasserbade erhitzt. Der alsbald entstehende feinflockige Niederschlag wird abgesaugt, mit Alkohol und Äther gewaschen und im Vakuum getrocknet, 2,2 g. Er wird mit 15 ccm Formol 20 Minuten im kochenden Wasserbade erhitzt. Die Lösung wird vom ausgeschiedenen Harz abgegossen und im Vakuum unter wiederholtem Zusatz von Wasser schließlich vorsichtig zum Sirup verdampft. Letzterer in Alkohol gelöst und mit Äther gefällt. Der sich jetzt ausscheidende Sirup erstarrte beim Stehen krystallinisch und schien Galaktose zu sein.

IV. Übertragung eines Rohrzuckerserums (Rohrzuckerimmunserums) auf nicht mit Rohrzucker vorbehandelte Tiere.

T. Kumagai beobachtete, daß sich ein fermentreiches Serum, das sich in einem Tiere nach der parenteralen Zufuhr von Rohrzucker gebildet hatte, auf ein anderes Tier derselben oder einer anderen Art übertragen läßt, ohne zunächst, wie man infolge der Verdünnung erwarten sollte, eine Einbuße seiner Wirksamkeit zu erfahren; ja in manchen Fällen nahm sogar die Wirksamkeit zu. Erst im Verlauf von Tagen wurde

das Serum des „passiv immunisierten Tieres“ schwächer und allmählich verschwanden die „Immunfermente“ ganz.

T. Kumagai schließt aus dem Fehlen der Abnahme bzw. der Steigerung der Fermentwirkung, daß das eingespritzte Serum im Körper des zweiten Tieres fermenterzeugend gewirkt habe. Soll dies heißen, daß die Organe des Tieres, auf das die Übertragung erfolgte, selbst neues Ferment bilden, so dürfte dieser Schluß wohl kaum richtig sein; wenigstens fehlt hierfür bisher jede Analogie.

Viel wahrscheinlicher ist, daß die Organe bzw. das Blut des zweiten Tieres auf Fermente, die sich bei der Übertragung in einem inaktiven Zustande befanden, aktivierend wirkten, oder daß für die Wirkung der „Immunfermente“ ein Komplement erforderlich ist, das im Körper des aktiv immunisierten Tieres fehlte, in dem des passiven aber vorhanden war. Hatte doch T. Kumagai selbst gefunden, daß das durch Erwärmen inaktivierte Serum bei der Übertragung wieder wirksam wird. Eine Nachprüfung der Angaben Kumagais bestätigte sie teils, teils ergänzte sie diese.

Bei Kaninchen XXVII blieb die Amylase des eingespritzten Serums 3 Tage in nur wenig veränderter Stärke erhalten. Die eigenartige Wirkung auf Rohrzucker, die sich in der Bildung eines außerordentlich stark rechts drehenden Körpers zu erkennen gab, schien sogar zugenommen zu haben. Beim Stehen im Kühlen wurde das Serum im Verlauf eines Tages inaktiv.

Kaninchen XXVII. 29. X. 14. $11^3/_4{}^h$ erhält 2,5 ccm Serum von Kaninchen XV in die Vene.

Injiziertes Serum: A 10^{-1} bis 10^{-8} gelb. $R_1 + 2^0 32'$. $L_1 - 14$. R 10^{-1} $+ 2^0 5'$. R $10^{-2} + 1^0 15'$. R $10^{-3} + 1^0 17'$. R $10^{-4} + 1^0 22'$. R 10^{-6} $+ 1^0 25'$. R $10^{-8} + 1^0 30'$.

$12^3/_4{}^h$. Blut von Kaninchen XXVII. A 10^{-1} bis 10^{-6} gelb. $R_1 +$ $2^0 10'$. $L_1 - 14'$. R $10^{-1} + 1^0 32'$. R $10^{-2} + 1^0 21'$. R $10^{-3} + 58'$. R $10^{-5} + 58'$. R $10^{-6} + 26'$. R $10^{-7} + 26'$. R $10^{-8} + 26'$.

31\. X. 7^h morgens Blut. 12^h zentrifugiert, steht im Kühlen bis 5^h. A 10^{-1} bis 10^{-8} gelb. R $10^{-1} + 1^0 9'$. R $10^{-2} + 1^0 54'$. R 10^{-3} $+ 1^0 32'$. R $10^{-4} + 56'$. R $10^{-5} + 49'$. R $10^{-6} + 26'$. R 10^{-1} und 10^{-2} reichliche Menge Osazon aus heißem Wasser in Kugeln, die aus dünnen Plättchen bestehen. R 10^{-8} reduziert nicht.

1\. XI. moribund. Serum A 10^{-1} bis 10^{-6} gelb, 10^{-7} blau. R 10^{-2} $+ 1^0 48'$. R $10^{-3} + 2^0 2'$. R $10^{-4} + 2^0 19'$ starke Reduktion, wenig

Osazon, Kugeln teils aus Körnchen, teils Nadeln. Keine Wirkung auf Traubenzucker, Lävulose und Galaktose (?).

Dasselbe Serum, nachdem es einen Tag im Kühlen gestanden hat. A 10^{-1} und 10^{-2} gelb. 10^{-3} blau. R 10^{-1} + 26′. R 10^{-2} + 22′. Keine Reduktion.

Bei Kaninchen XXXVI nahm die Amylase zu, das schwach wirksame Invertin blieb mehr als 3 Wochen lang erhalten, auf Lävulose wirkte dieses Serum nicht.

Kaninchen XXXVI. 9. II. 15. 2 ccm Serum von Kaninchen XXXI.

Injiziertes Serum. A 10^{-1} gelb. 10^{-2} blau. $R_1 \pm 0{,}0$ nur Glucosazon. L_1 — 14′.

Serum nach 1 Stunde. A 10^{-1} und 10^{-2} gelb. 10^{-3} blau. R_1 — 19′ nur Glucosazon. L_1 — 22′.

10. II. Serum A 10^{-1} und 10^{-2} gelb. 10^{-3} schwach violett. R_1 — 9′ reduziert stark, Glucosazon. L_1 — 15′.

15. II. Serum. A 10^{-1} und 10^{-2} gelb. 10^{-3} schwach braun. $R_1 \pm 0{,}0$. R_2 — 8′ nur Glucosazon. L_1 — 11′. L_2 — 14′.

25. II. Serum. A 10^{-1} bis 10^{-3} gelb. R_1 + 9′. L_1 — 15′.

3. III. Serum. A 10^{-1} bis 10^{-3} gelb. R_1 + 5′. R_2 + 5′. L_1 und L_2 — 15′.

4. III. tot. Blut aus Gefäßen mit dem gleichen Volumen 0,8% ClNa. A 10^{-1} bis 10^{-5} gelb. 10^{-6} blau. R_1 + 6′. R_2 — 31. L_1 — 14. L_2 — 15.

Bei Kaninchen VIII nahmen die Fermentwirkungen innerhalb der ersten 24 Stunden anscheinend ein wenig zu, nach 3 Tagen war Amylase und Invertin auf einen geringen Betrag gesunken und die Wirkung auf Lävulose anscheinend verschwunden. Bei einer weiteren Übertragung dieses Serums auf Kaninchen IX ließen sich die Fermente im Serum des letzteren nicht nachweisen.

Kaninchen VIII. 1. XII. 13. 2,5 ccm Serum von Kaninchen II intravenös.

Injiziertes Serum. A 10^{-1} braun. 10^{-2} blauviolett. 10^{-3} blau. R_1 + 56′. R_2 + 1° 6′. Starke Reduktion, wenig amorphes Osazon. L_1 und L_2 + 27′. Glucosazon, Nadeln und amorphe Massen.

2. XII. Serum. A 10^{-2} gelb. 10^{-3} blau. R_1 + 1° 13′. R_2 + 1° 9′. Glucosazon und Lactose. L_1 + 40′. L_2 + 30′.

4. XII. Serum. A 10^{-1} blaurot. 10^{-2} blau. R_1 + 14′. L — 20′. R 10^{-1} starke Reduktion. R 10^{-2} keine Reduktion.

Kanincheu IX. 4. XII. 3 ccm Serum von Kaninchen VIII. Kein Ferment.

Im Versuch b von Kaninchen XXXII nahmen innerhalb dreier Tage die injizierte Amylase, das Invertin und das auf Lävulose wirkende Ferment nur langsam ab.

Kaninchen XXXIIb. 25. XII. 3 ccm Serum von Kaninchen XXIII.

Injiziertes Serum. A 10^{-1} bis 10^{-3} gelb. 10^{-4} blau. $R_1 \pm 0{,}0$ $L_1 + 19'$: am folgenden Tage A 10^{-1} bis 10^{-4} gelb. R 10^{-1} 0,0 R $10^{-2} + 8'$. R $10^{-3} + 11'$ reduziert stark. R $10^{-4} + 24'$ reduziert minimal.

Serum nach der Injektion A 10^{-1} bis 10^{-3} gelb. 10^{-4} blau. R $10^{-1} - 2'$. R $10^{-2} + 10'$. R $10^{-3} + 11'$ reduziert stark. R 10^{-4} $+ 26'$ reduziert sehr schwach.

28. XII. Serum A 10^{-1} und 10^{-2} gelb. 10^{-3} blau. $R_1 - 3'$. $R_2 - 11'$. $L_1 + 15'$. $L_2 + 21'$.

3. I. tot. Harn aus Blase reduziert und dreht nicht. Blut mit dem gleichen Volumen 0,8% ClNa. $R_1 - 4'$. $L_1 + 2'$.

Auch bei Hund IV (s. Protokoll) nahmen die Fermente des sehr wirksamen Serums von Kaninchen XXV ab und waren am vierten Tage nach der Einspritzung verschwunden.

Eine Aktivierung fand in den folgenden Versuchen statt: Das Serum von Kaninchen XXIV, das nach wiederholter Einspritzung von Rohrzucker völlig inaktiv war, erhielt unmittelbar nach der Übertragung auf Kaninchen XXXI eine nicht unbeträchtliche Wirkung auf Stärke. 2 Tage später war auch eine schwache Wirkung auf Rohrzucker (und Lävulose?) nachweisbar. 11 Tage nach der Injektion waren diese Wirkungen verschwunden.

Kaninchen XXXI. 2,85 Kilo. 3. XII. 1914 erhält 2,5 ccm Serum von Kaninchen XXIV.

Injiziertes Serum ist inaktiv.

1¾ Stunden nach der Injektion Blutprobe.

Serum. A 10^{-1} und 10^{-2} gelb. 10^{-3} blau. Kein Invertin.

5. XII. Serum A 10^{-1} und 10^{-2} gelb. 10^{-3} braun. 10^{-4} blau. $R_1 + 17'$. $R_2 + 24'$ starke Reduktion, nur Glucosazon. $L_1 - 14'$. $L_2 \pm 0{,}0$.

8. XII. Serum A 10^{-1} und 10^{-2} gelb. 10^{-3} blau. $R_1 + 19'$. $R_2 + 21'$ starke Reduktion, nur Glucosazon.

14. XII. Serum A 10^{-1} blau. R_1 und $R_2 + 25'$ sehr schwache Reduktion.

28. XII. Serum kein Ferment.

13. 14. 15. I. 15. j. 8 g Rohrzucker in die Vene.

21. I. Serum A 10^{-1} braun. 10^{-2} blau. $R_1 + 2$. $R_2 + 10$. $L_1 - 15$. $L_2 - 5$; nur Glucosazon.
26. I. Serum A 10^{-1} gelb. 10^{-2} blau. Kein Invertin.
1. II. Serum A 10^{-1} blau. Kein Invertin.
9. II. Serum A 10^{-1} gelb. 10^{-2} blau. $R_1 \pm 0,0$ starke Reduktion, nur Glucosazon. $L_1 - 14$.
14. II. 7,5 g Rohrzucker in die Vene.
15. II. tot. Harn aus Blase reduziert und dreht nicht. Blut aus Herz mit gleichem Volumen 0,8% ClNa verdünnt. $R_1 + 2'$ nur Glucosazon. $L_1 - 12'$.

Ähnlich war die Wirkung bei Kaninchen XXXVII, als ihm das inaktive Serum von Kaninchen XXXIII eingespritzt wurde.

Das inaktive Serum von Kaninchen XXXIV erhielt ebenfalls nach Übertragung auf Kaninchen XXXVII eine stärkere Amylasewirkung und spaltete Rohrzucker; auf Lävulose wirkte es nicht. Es schien bei der Wirkung auf Rohrzucker noch andere Produkte als d-Glucose und d-Fructose zu bilden.

Kaninchen XXXVII. 9. II. 15. 2 ccm inaktives Serum von Kaninchen XXXIII.

Serum nach 1 Stunde inaktiv.
10. II. Serum A 10^{-1} gelb. 10^{-2} blau. $R_1 + 19'$ schwache Reduktion. $L_1 - 15$.
15. II. Serum A 10^{-1} blau. Kein Invertin.
5. III. 1,5 ccm Serum von Kaninchen XXXIV.
Das Serum war unwirksam (s. dort).
6. III. Serum kein Ferment.
8. III. tot (durch Pneumonie?). Trächtig. Einige Stunden nach dem Tode Blut aus dem Herzen, mit dem gleichen Volumen 0,8% ClNa, hämolytisch A 10^{-1} bis 10^{-3} gelb. $R' + 28'$ starke Reduktion, Osazon wenig bewachsen, z. T. im heißen Wasser löslich, beim Erkalten Sterne aus gelben Tafeln. $R_2 + 32'$ Glucose wenig bewachsen; in heißem Wasser weniger löslich als R_2. L_1 und $L_2 - 14'$ nur Glucosazon.

Sehr merkwürdig war das Verhalten des Serums bei Kaninchen XXIX. Es hatte das Serum von Kaninchen XXVI erhalten, das nach wiederholten Rohrzuckereinspritzungen dem Tode nahe war. Dieses Serum enthielt kein Invertin, zeigte aber verstärkte Einwirkung auf Stärke, die beim Stehen in höchstem Maße zunahm. Im Körper von Kaninchen XXIX erreichte die Diastasewirkung nicht die Größe wie bei der spontanen Aktivierung, sie nahm nur wenig zu. Invertin war

während des Lebens zunächst nicht nachzuweisen. Am 7. Tage nach der Einspritzung lag das Tier im Sterben und wurde durch Halsschnitt getötet. Jetzt zeigte das Blut maximale Wirkung auf Rohrzucker und Lävulose. Auch die Diastase hatte noch zugenommen.

Kaninchen XXIX. 20. XI. 14. 2,5 ccm von Kaninchen XXVI.

Injiziertes Serum A 10^{-1} bis 10^{-3} gelb. Am folgenden Tage A 10^{-1} bis 10^{-8} gelb. Kein Invertin.

Blut nach 1 Stunde entnommen. Serum am folgenden Tage. A 10^{-1} bis 10^{-6} gelb. Kein Invertin.

23. XI. Serum nach 4 Stunden A 10^{-1} bis 10^{-4} gelb. 10^{-5} blau. Kein Invertin.

25. XI. Serum nach 4 Stunden ebenso.

27. XI. sterbend. Tod durch Halsschnitt.

Serum: A 10^{-1} bis 10^{-6} gelb. 10^{-7} blau.

$R_1 + 2^0 3'$ starke Reduktion, wenig typisches Glucosazon, viel fein krystallinische Massen, aus heißem Wasser ganz einheitliche Sterne aus gelben Plättchen. $L_1 + 57'$.

$R_2 + 2^0 3'$ reichlich Glucosazon und schwefelgelbe Plättchen.

$L_2 + 1^0 2'$ reichlich Glucosazon und undeutlich krystallinische Massen.

28. XI. Dasselbe Serum.

R $10^{-1} + 1^0 42'$. $10^{-2} + 55'$. $10^{-3} + 1^0$. $10^{-4} + 55'$. $10^{-6} + 47'$. $10^{-7} + 42$. $10^{-8} + 42$ in allen Proben reichlich „Glucosazon“, in heißem Wasser wenig löslich, beim Erkalten des Filtrats kleine Kugeln aus Nadeln bzw. sehr feinen Plättchen.

Ähnlich war der folgende Versuch. Hier erhielt ein Kaninchen das Blutserum von Hund IV 12 Tage, nachdem vorher längere Zeit große Mengen Rohrzucker eingespritzt worden waren, ohne daß das Blut mehr als eine geringe Zunahme der Diastase und schwache Invertinwirkung gezeigt hätte. Nach der Injektion ging das Kaninchen zugrunde. Und jetzt wirkte das aus den großen Gefäßen gewonnene Blut zwar schwach diastatisch, aber in energischster Weise auf Rohrzucker und Lävulose, nicht auf Traubenzucker.

In anderen Fällen wurde das Serum von Kaninchen, die mit Rohrzucker vorbehandelt waren, auf andere Kaninchen übertragen, ohne daß die an sich inaktiven Sera aktiviert wurden.

Kaninchen XXXII a. 11. XII. 14. 2,5 bis 3 ccm von Kaninchen XXVIII.

Injiziertes Serum A 10^{-1} gelb. Kein Invertin.

Serum nach 1 Stunde kein Invertin.

15. XII. Serum A 10^{-1} Spur violett. $R_1 + 25$ keine Reduktion.
21. XII. Serum A 10^{-1} blau. $R_1 + 24$ Reduktion.

Kaninchen XXXVa. 3,2 Kilo, männlich. 22. I. 15. 3 ccm Blutserum von Hund IV mit dem gleichen Volumen 0,8 %iger ClNa-Lösung verdünnt.

Injiziertes Serum A 10^{-1} und 10^{-2} gelb. 10^{-3} blau. $R' + 15'$. $R_2 + 23'$ reduz. stark, nur Glucosazon. L_1 und $L_2 - 15$.
1 Stunde nach der Injektion stirbt das Kaninchen.
20 g des Blutkuchens aus dem Herzen werden mit 40 ccm 0,8 %iger ClNa-Lösung verrieben und zentrifugiert. Proben wie gewöhnlich aufgestellt nur mit 0 statt 0,5 ccm.

23. I. A 10^{-1} schwach violett. 10^{-2} blau.
$R_1 + 1^0\,59'$. Starke Reduktion, wenig Glucosazon und reichlich Kugeln. In heißem Wasser fast vollkommen löslich. Aus heißem Wasser nur Sterne.
$L_1 + 1^0\,28'$. Glucosazon und viel Kugeln.
$R_2 + 1^0\,17'$. Während des Erhitzens mit essigsaurem Phenylhydrazin kein Niederschlag. Nach dem Erkalten kleine Glucosazonkrystalle und Kugeln (wie aus Gemischen von Milchzucker und Galaktose) und eigentümliche, schwefelgelbe Schollen. Aus heißem Wasser nur Sterne wie bei R_1.
L_2. Osazon wie R_2.
25 ccm des verdünnten Serums werden mit 8 g Traubenzucker gemischt und auf 80 ccm aufgefüllt. Keine Änderung der Drehung.

Kaninchen XXXV. 9. II. 15. 2 ccm Serum von Kaninchen XXXIV.

Injiziertes Serum A 10^{-1} blau. Kein Invertin.
Serum nach 1 Stunde: A 10^{-1} blau, kein Invertin.

10. II. Serum: A 10^{-1} gelb. 10^{-2} braun. 10^{-3} blau. $R_1 + 17'$ reduz. schwach. $L_1 - 15'$.
15. II. Serum A 10^{-1} blau. Kein Invertin.
5. III. 1,5 ccm Serum von Kaninchen XXXIII.
Injiziertes Serum inaktiv.
6. III. Serum inaktiv.
12. III. Serum A 10^{-1} blau. $R_1 + 19'$ $R_2 + 8$, nur Glucosazon. $L_1 - 15'$.
18. III. Serum kein Ferment.
7. IV. 7,5 g Rohrzucker subcutan.
8. IV. Tot. Serum kein Invertin.

Kaninchen XXVIII. 2. XI. 14. 2,6 ccm Serum des Hundes IV von 1. XI 14.

Injiziertes Serum A 10^{-1} bis 10^{-3}. $R_1 + 2'$ und $R_1 - 2'$ starke Reduktion. Glucosazon. $L_1 - 14'$. $L_2 - 7$.
Serum einige Stunden nach der Injektion kein Ferment.

Kaninchen V. 8. XI. 13. 3 ccm Serum von Kaninchen IV intravenös.

Das injizierte Serum war nach dem Tode entnommen und unwirksam, während das Serum einige Tage vorher wirksam gewesen war.

10. XI. Serum unwirksam.

92. XI. 2 ccm Serum von Kaninchen II (s. auch Kaninchen VIII).
Injiziertes Serum A 10^{-3}. R + 16'. L + 18', reichlich Glucosazon und Lactosazon.

24. XI. Serum unwirksam.

Bei der Übertragung eines nach parenteraler Rohrzuckereinspritzung gewonnenen Serums auf ein zweites Tier können also folgende Fälle eintreten: 1. Das fermenthaltige Serum behält nach der Übertragung zunächst annähernd gleiche Stärke. Diese nimmt dann in dem Tiere, auf das die Übertragung stattfand, allmählich mehr oder weniger schnell ab. 2. Bei der Übertragung erfolgt eine „Aktivierung“, d. h. die Fermente, die im übertragenen Serum nicht enthalten zu sein scheinen, werden nach der Übertragung auf ein nicht mit Rohrzucker vorbehandeltes Tier der gleichen oder anderen Art wirksam. 3. Unwirksame Sera von Tieren, die mit Rohrzucker vorbehandelt waren, werden bei der Übertragung nicht wirksam.

V. Umwandlung von Traubenzucker in Milchzucker bei einem Hunde nach der Exstirpation des Pankreas und nachfolgender Injektion eines aktiven Rohrzuckerserums.

Die Tatsache, daß sich die Fermente eines aktiven Rohrzuckerserums tagelang nach der Übertragung im Blute des „passiv immunisierten“ Tieres nachweisen lassen, erklärt in einfacher Weise auch die folgende Beobachtung.

Einem Hunde wurde das Pankreas herausgenommen und bald darauf ein Rohrzuckerimmunserum — nähere Angaben konnte ich von Herrn T. Kumagai nicht erlangen — in die Vene gespritzt. Gegen Abend starb der Hund. Aus dem Herzblut wurden 0,5 g Zucker und aus dem Harn mehrere Gramm eines farblosen, körnig krystallinischen Zuckers erhalten, der etwas urinös roch und aschehaltig war.

Der Zucker aus dem Herzblut liefert beim Erhitzen mit essigsaurem Phenylhydrazin ein Osazon, das in heißem Wasser fast völlig löslich ist, und sich beim Erkalten in Kugeln und unregelmäßigen Massen ausscheidet, die aus feinen spitzigen Nadeln bestehen. 0,3 g mit 3 ccm konz.

Salpetersäure abgedampft, mit wenig Wasser verdünnt, kleine Mengen Schleimsäure.

Der Zucker aus dem Harn wurde der Untersuchung unterworfen zu einer Zeit, als die Untersuchungen über die Natur des „Disaccharids" begannen. Es wurde folgendes gefunden:

1 g erforderte zur Lösung 1,5 bis 2 ccm Wasser; auf Zusatz von 1 ccm Alkohol schied er sich allmählich in makroskopischen harten Krystallen ab.

Beim Erhitzen mit essigsaurem Phenylhydrazin entstand kein Niederschlag, beim Erkalten schieden sich Kugeln ab, über deren Ränder feine Nadeln herrausragten. Mit Diphenylhydrazin keine Reaktion.

0,6692 werden unter gelindem Erwärmen gelöst und auf 15 ccm aufgefüllt. Da die Lösung zu trübe ist, um polarisiert zu werden, wird über MgO filtriert. α in 1 Dez.-Rohr $+ 2^0 1'$, entsprechend 3,8 % Milchzucker. Nach dem Verdünnen auf das Fünffache reduzieren 8,6 ccm 10 ccm Fehlingsche Lösung bei 2 Minuten Kochdauer. Die Reduktion entspricht 3,9 % Milchzucker.

Das Drehungsvermögen [$\alpha_D = 43{,}5^0$] ist zu gering für Milchzucker; es erklärt sich dies aber durch den Asehegehalt.

2 g werden in 50 ccm Wasser gelöst und mit 1,5 ccm konz. Schwefelsäure im kochenden Wasserbade erhitzt

a) 15 Stunden. 30 ccm mit $CaCO_3$ neutralisiert und mit Kohle entfärbt. $\alpha + 1^0 24'$, entspricht 3,04 % Traubenzucker, im Lohnstein vergoren 1,4 bzw. 2 % Traubenzucker.

b) 20 Stunden. . . . $\alpha + 2^0 2'$ entspricht 3,9 % Traubenzucker, im Lohnstein nach 10 Stunden 3,2 %.

Die vergorene Flüssigkeit, mit essigsaurem Eisen enteiweißt, reduziert noch stark; mit essigsaurem Phenylhydrazin erhitzt, nach dem Erkalten atlasglänzende Krystalle, mikroskopisch: Sterne aus großen, schmalen, gelben Tafeln.

0,2 g mit 20 ccm Chloroformwasserextrakt der Dünndarmschleimhaut vom Kalb (1 g Schleimhaut auf 2 ccm Chloroformwasser) und 0,2 ccm 10 %ige Thymollösung;

a) aus dem oberen Teil des Dünndarms nicht gespalten,

b) aus dem unteren Teil gespalten (nach 2 Tagen reichlich, nach 4 Tagen sehr reichlich Glucosazon).

0,5 g mit 0,1 g wirksamem Emulsin (E. Merck) in 50 Wasser und Toluol. Keine Spaltung.

Im Verein mit den für die Wirkung des Rohrzuckerserums festgestellten Tatsachen kann es nicht zweifelhaft sein, daß der ausgeschiedene Zucker Milchzucker war.

Eine Wiederholung des Versuches ist mir bisher noch nicht möglich gewesen.

Nach dem Ergebnis dieses Versuches ist zu erwarten, daß die gleiche Umwandlung von Rohrzucker in Milchzucker im lebenden

Tiere gelingt, wenn man zuerst durch intravenöse Rohrzuckerinjektion die Antifermente hervorruft, es also „aktiv" oder, wenn man es durch Übertragung eines aktiven Serums „passiv immunisiert" und dann das Tier unter die Wirkung von Phlorrhizin setzt.

Für diesen Versuch geeignete Hunde bzw. Sera standen mir bisher nicht zur Verfügung. Bei den früher erwähnten Hunden (II und IV), deren Serum keine Stereokinasen enthielt, wurde nach oder während parenteraler Zufuhr von Rohrzucker unter dem Einfluß des Phlorrhizins kein Milchzucker ausgeschieden.

Schlußfolgerungen.

Im Vordergrund der mitgeteilten Tatsachen stehen neue Beobachtungen, die zeigen, daß das Blut eines Tieres nach der parenteralen Zufuhr von Rohrzucker unter Umständen nicht nur die Fähigkeit erlangt, Rohrzucker in Dextrose und Lävulose zu spalten, sondern auch diese beiden Hexosen in Milchzucker überzuführen. Diese Umwandlung kann auch im lebenden Tiere geschehen.

Zur Erklärung dieser eigenartigen Erscheinung wurde die Annahme gemacht, daß in dem Blut nach intravenöser Einspritzung von Rohrzucker Fermente von bisher unbekanntem Charakter auftreten, „Stereokinasen", die ohne Änderungen des Kohlenstoffgerüstes durch Umlagerung von H, OH, bzw. O= sterische Änderungen innerhalb des Hexosenmoleküls bewirken. Neben dem Invertin und den Stereokinasen ist in dem Rohrzuckerserum gleichzeitig ein synthetisierendes milchzuckerbildendes Ferment wirksam, eine Lactese.

Die weittragende Bedeutung, die die Annahme von Stereokinasen hat, liegt auf der Hand, besonders wenn man an die Möglichkeit denkt, daß es vielleicht auch Stereokinasen gibt, die auf Eiweißstoffe und deren Spaltungsprodukte wirken.

Auf die Beziehungen, die unsere Beobachtungen zu den Erscheinungen haben, die der Immunität zugrunde liegen, wurde in der Arbeit von Kumagai bereits hingewiesen und zur Betonung dieser Beziehung das fermenthaltige Serum, das nach parenteraler Zufuhr von Rohrzucker erhalten wird, als Rohrzuckerimmunserum, der Rohrzucker als Antigen und die auftretenden Fermente als Antikörper bezeichnet. Hiergegen wendet sich Abderhalden[1]) mit der „Bitte, die sehr klaren Verhält-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **90**, 391, 1914.

nisse bei Fermentversuchen nicht durch die Nomenklatur der Immunitätsforschung für manche Forscher zu verschleiern. Es ist zurzeit viel zu früh, Begriffe, die sich auf dem Gebiete der Immunitätsforschung herausgebildet haben, auf die vorliegenden Ergebnisse der Versuche über Fermente zu übertragen. Weshalb soll man den Begriff Substrat und Ferment durch andere Namen ersetzen? Es wird nur die gegenseitige Verständigung außerordentlich erschwert usw.“ Dazu kann ich nur bemerken: Es ist uns selbstverständlich nicht in den Sinn gekommen, den Begriff von Substrat und Ferment durch andere Namen ersetzen zu wollen. Mit dem Hinweis auf die Beziehungen unserer Beobachtungen zur Immunitätsforschung schließen wir uns aber an einen Gedanken an, der zuerst von Heilner ausgesprochen worden ist und Abderhalden die Anregung zu seinen Untersuchungen über Schutz- oder Abwehrfermente gegeben hat.

Nachdem nämlich schon früher wiederholt gefunden worden war, daß kleine Mengen von parenteral zugeführtem Eiweiß im Körper zurückgehalten und anscheinend verwertet werden, hatte E. Heilner[1]) festgestellt, daß man einem Kaninchen ganz außerordentlich große Mengen fremdartigen Serums ($^1/_8$ des ganzen Körpergewichts Pferdeserum) ohne jeden Schaden unter die Haut spritzen kann und daß dieses Eiweiß, wie der Stoffwechselversuch zeigte, allmählich im Körper abgebaut wird. Zur Erklärung dieser überraschenden Tatsache erinnert Heilner an die Beobachtungen Weinlands über das Auftreten von Invertin im Blute nach der parenteralen Rohrzuckerzufuhr und spricht die Vermutung aus, daß, wenn man wie dort durch parenterale Zufuhr von Rohrzucker, so hier durch subcutane Einspritzung von Serum den Körper „unter den Zwang setzt, diese in gewissem Sinne blutfremden Stoffe in die Blutbahn zu übernehmen, der Körper hierauf antworte durch Bildung eines für gewöhnlich nicht vorhandenen, nur auf den Abbau des eingebrachten Eiweißindividuums abgestimmten Fermentes. Die Spaltungsprodukte des Eiweißes werden entweder weiter verbrannt, oder aber, nachdem sie durch diese erste Spaltung ihres spezifischen Artcharakters beraubt sind, zum Aufbau von eigenem Körpereiweiß

[1]) Zeitschr. f. Biol. **50**, 26, 1908.

verwendet". Bei späterer Gelegenheit[1]) führt Heilner aus, daß die „Zufügung von Rohrzucker sowohl als von Eiweiß zum Blut des lebenden Tieres für den Organismus durchaus nicht gleichgültig ist. ... Die Fermentbildung auf solche Reize muß daher im Sinne einer Schutzbestrebung des Gesamtorganismus aufgefaßt werden. ... Es handelt sich hier um einen Vorgang, den ich als Schutz- oder Immunofermentbildung bezeichnen möchte, der mit den Vorgängen bei der Immunisierung, bei der es sich ja auch um die Bildung spezifischer Schutzstoffe handelt, durchaus in Parallele zu setzen ist".

Diese Ideen Heilners fielen auf einen günstigen Boden bei Abderhalden, der sich bereits mit dem Vorkommen von peptolytischen Fermenten im normalen Blute beschäftigte und nunmehr zusammen mit seinen Schülern in einer größeren Anzahl von Versuchen den Nachweis führte, daß tatsächlich, wie Heilner vermutete, das Blutplasma nach parenteraler Zufuhr von Eiweißstoffen und deren Spaltungsprodukten mehr oder weniger spezifische, peptolytische Fermente enthält.

Unser Vergleich der fermentativen Wirkung des Rohrzuckerserums mit einem Immunserum ist also durchaus nicht originell. Für uns aber hatte er die Bedeutung, daß er die Veranlassung gab, zu untersuchen, ob ein solches Serum auch in anderer Beziehung die Eigenschaften eines Immunserums hat, ob es sich durch Erwärmen inaktivieren, durch Komplementzusatz reaktivieren läßt und ob es sich bei der Übertragung auf andere Tiere wie ein Immunserum verhält. Die Versuche fielen im positiven Sinne aus, zeigen also die Berechtigung des Vergleichs. Und Abderhalden selbst hat nach Veröffentlichung der Arbeit Kumagais entsprechende Versuche mit den proteolytischen „Abwehrfermenten" veröffentlicht, wie sie kurz vorher, als erster auch Richard Stephan[2]) publiziert hatte.

Noch einige weitere Bemerkungen möchte ich bei dieser Gelegenheit machen. In dem Heilnerschen Zitat finden wir bereits den Gedanken, daß die nach der parenteralen Einspritzung auftretenden Fermente dem eingeführten Eiweißkörper seinen spezifischen Artcharakter nehmen und daß die hierbei

---

[1]) Zeitschr. f. Biol. **56**, 80, 1911.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. **1914**, 1209.

entstehenden Spaltungsprodukte, soweit sie nicht verbrannt werden, zum Aufbau von „neuem Körpereiweiß" verwendet werden.

Auch diesen Gedanken hat E. Abderhalden aufgenommen und ihn in seinem Werk über die „Synthese der Zellbausteine" des weiteren ausgesponnen.

Nach E. Abderhaldens eigener Darstellung[1]) bilden die Anschauungen über die Rolle, welche die Verdauungsfermente im Darmkanal spielen, auch die Grundlage für seine Anschauungen über Schutz- und Abwehrfermente.

Nun scheinen mir aber die Heilnerschen Anschauungen, denen sich E. Abderhalden anschließt, durchaus anfechtbar. Sie beruhen auf den bekannten Tatsachen der Serumforschung und besonders den Präcipitinreaktionen, durch die der Begriff des artfremden und arteigenen Eiweißes geschaffen worden ist.

Durch die Verdauung soll „dem Eiweiß der Nahrung der Artcharakter genommen werden". Nach diesem Ausdruck müßte das Eiweiß bei der Verdauung immer noch Eiweiß bleiben. In Wirklichkeit wird aber das Eiweißmolekül durch die Verdauung vollkommen zerstört. Das Eiweißmolekül verschwindet und statt seiner entstehen andere Produkte.

Weiter ist der „Zweck" der Eiweißverdauung nicht der, dem Organismus den Aufbau von neuem „arteigenen" Körpereiweiß zu ermöglichen. Selbst wenn man den Ersatz abgenutzter oder alternder Zellen im erwachsenen Tier in einer meiner Ansicht nach nicht zutreffenden Weise als einen Eiweißaufbau bezeichnet, so wissen wir doch, daß von dem Nahrungseiweiß unter gewöhnlichen Verhältnissen nur der kleinste Teil zu diesem Zwecke verwendet wird.

Welchen „Zweck" haben ferner die anderen nicht auf Eiweiß wirkenden Verdauungsfermente? E. Abderhalden kommt durch Verallgemeinerung des Heilnerschen Gedankens zu der Folgerung, daß auch die Fette und Kohlenhydrate der Nahrung einen spezifischen Artcharakter — spezifisch durch den Ort ihrer Herkunft — besitzen. Das ist aber sicher nicht zutreffend. Welche Fette wir auch in der Nahrung aufnehmen, es sind stets im wesentlichen die Triglyceride der Palmitinsäure, Stearinsäure und Ölsäure und das Kohlenhydrat der Nahrung ist die Stärke, die,

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. **1914**, 802.

soweit wir bisher wissen, in allen Fällen dasselbe Anhydrid des Traubenzuckers ist.

Das Wesentliche der Verdauungsfermente sehe ich darin, daß sie aus den Nahrungsstoffen „reaktionsfähige“ Produkte erzeugen, d. h. Stoffe, die vermöge ihrer physikalischen und chemischen Eigenschaften von den „lebenden“ Zellen verwertet werden können. Stärke und Rohrzucker sind Reservestoffe, die die Pflanze für ihre Bedürfnisse erzeugt, ebenso die Fette. Die Bildung der Reservestoffe geht einher mit einer Herabsetzung des osmotischen Druckes und der Maskierung der reaktionsfähigen Gruppen. Werden diese Reservestoffe dem Verbrauch zugeführt, so erfolgt in der Pflanze und ebenso im Tier die Spaltung durch hydrolytisch wirkende Enzyme. Hierbei nimmt der osmotische Druck zu und die reaktionsfähigen Gruppen — bei den Kohlenhydraten in erster Linie die Carbonylgruppe — werden frei. Ähnliches gilt auch für die Eiweißstoffe, wo durch Spaltung der „Peptidbindung“ die Amino- und Carboxylgruppen, welche die Reaktionsfähigkeit ermöglichen, in Freiheit gesetzt werden. Die „Zwecke“, denen die Spaltungsprodukte im Stoffwechsel dienen, sind unendlich verschiedener Art.

Auch die Reaktion, die im Blut nach der parenteralen Zufuhr von Nahrungsstoffen eintritt, dient nach Heilner-Abderhalden einem bestimmten Zweck. Während bei der oralen Zufuhr von Nahrungsstoffen der „Darm mit seinen Fermenten eine mächtige Barriere gegen die Außenwelt bildet“, erzeugt der Körper bei Einführung von Nahrungsstoffen in die Blutbahn die Fermente, welche die blutfremden Stoffe spalten und auf diese Weise für den Körper unschädlich machen sollen. „Sie erscheinen, um durch weitgehenden Abbau den spezifisch gebauten Stoffen ihre Eigenart zu nehmen“ und haben die Aufgabe, „den versäumten Abbau in der Blutbahn nachzuholen“.

Selbst wenn es richtig und bewiesen wäre, daß eine derartige Reaktion eine für den Organismus zweckmäßige ist, so wäre das „Zweckmäßige“ doch nur das Zufällige und nicht das für die Erforschung des Vorganges Wesentliche.

Diese Betonung der Zweckmäßigkeit, wie sie sich in den Worten Schutz- oder Abwehrfermente zu erkennen gibt, erklärt sich wiederum durch die Beziehungen, die die nach parenteraler Zufuhr von Eiweiß und Rohrzucker eintretenden

Reaktionen zu den Erscheinungen der Immunität haben. Im Vordergrund der Immunitätsforschung steht der Zweck, insofern als man durch Sera Heilwirkung erzielen will. Wenn ein Arzt einen Menschen mit einem Serum impft, um ihn gegen eine Krankheit zu schützen, so ist die Erzielung des Schutzes der Zweck, und wenn die gewünschte Reaktion im Körper eintritt, so ist diese Reaktion zweckmäßig. Die Reaktion als solche hat aber mit dem Zweck nichts zu tun. Der Mensch reagiert auf die Kuhpockenlymphe, gleichgültig, ob er später einer Pockeninfektion ausgesetzt ist oder nicht.

Gegenstand der Forschung ist einzig die Frage: Was geschieht im Organismus nach parenteraler Zufuhr gewisser Stoffe? Treten Fermente auf, die auf die eingeführten Stoffe chemisch einwirken? In welcher Art wirken sie? Wie und wo entstehen sie?

Was nun die letzte Frage betrifft, so wurde bereits auf die Äußerung Weinlands hingewiesen, derzufolge das Invertin, das nach parenteraler Zufuhr von Rohrzucker im Blut erscheint, aus den Zellen des Dünndarms stammt. Während unter normalen Verhältnissen in der Zeiteinheit entsprechend kleine Mengen von Rohrzucker in geringer Konzentration in die betreffenden Darmzellen eintreten, um hier ähnlich wie der Rohrzucker in den Hefezellen gespalten zu werden, kommen diese Zellen — wenigstens in Weinlands und in unseren Versuchen — plötzlich mit Rohrzuckermengen von großen Konzentrationen in Berührung. Dies wirkt als Reiz und führt dazu, daß die invertinbildenden Zellen das Ferment vielleicht in größerer Menge als sonst bilden und es an das Blut abgeben. Das Invertin vermag nur Rohrzucker zu spalten. Die Reaktion ist spezifisch.

Nun finden wir aber nach der Rohrzuckereinspritzung nicht nur Invertin, sondern auch eine außerordentliche Steigerung der Amylasewirkung, und wir finden weiter die obenerwähnten Stereokinasen und die Lactese. Hier hört die Spezifizität auf.

Es ist auch nicht ersichtlich, in welcher Weise diese Fermente zum Schutz des Organismus gegen den Rohrzucker dienen können. Die Diastase wirkt auf ihn nicht ein, und nach dem, was wir bisher wissen, werden Dextrose und Lävulose direkt, nicht über Galaktose und Milchzucker assimiliert.

Bei der weiten Verbreitung der Amylase im Organismus ist es verständlich, daß gewisse durch die parenterale Zufuhr großer Rohrzuckermengen erzeugen Störungen auch zu einer abnormen Bildung von Amylase in diesem oder jenem Organ führen. In bezug auf die Galaktose und Milchzucker bildenden Fermente haben wir uns aber die Frage vorzulegen: Werden diese Fermente schon unter normalen Verhältnissen bei ausschließlich oraler Ernährung im Organismus gebildet oder erhält der Organismus erst durch die parenterale Zufuhr von Rohrzucker die Fähigkeit, die Fermente zu bilden. A priori halte ich das letztere nicht für wahrscheinlich. Auch für andere Fälle kann ich mir nicht gut vorstellen, daß die parenterale Zufuhr eines Stoffes die Bildung eines Fermentes veranlaßt, das nicht auch sonst, wenn auch in vielleicht sehr geringer Menge, schon irgendwo im Körper gebildet wird.

Bedenken wir nun, daß in der Milchdrüse Milchzucker vermutlich aus Traubenzucker oder Lävulose entsteht, so würde man in ihr das Organ zu suchen haben, aus dem die Stereokinasen und die Lactese herkommen. Dem scheint zu widersprechen, daß diese Fermente angeblich auch bei männlichen Tieren auftraten. Über diese Schwierigkeit könnte man durch den Hinweis hinwegkommen, daß sich auch bei männlichen Tieren gewisse Mengen Milchdrüsengewebe findet. Doch sollen auf diesen Punkt zunächst noch weitere Untersuchungen gerichtet werden, von denen ich hoffe, daß durch sie auch die Unsicherheiten beseitigt werden, die in bezug auf die Bedingungen bestehen, unter denen nach der parenteralen Rohrzuckereinspritzung Invertin, Stereokinasen und Lactese im Blute erscheinen.

Versuche.

Methode. Das Blut wurde in Zentrifugengläschen aufgefangen und gerann in ihnen. Meist nach 4 Stunden, in einer Reihe von Fällen erst am folgenden Tage, wurde zentrifugiert und das Serum vorsichtig abgehoben.

Prüfung auf Invertin. 0,5 ccm Blutserum werden gemischt mit 0,5 ccm einer $10^0/_0$igen Zuckerlösung und 9 ccm Wasser unter Zusatz von 1 Tropfen Toluol. Nachdem das Gemisch bis zum folgenden oder übernächsten Tage im Thermostaten gestanden hat, wird mit 0,2 bis 0,5 g essigsaurem

Natrium und 4 bis 5 Tropfen einer 30%igen Eisenchloridlösung im kochenden Wasserbade erhitzt, abgekühlt, durch ein trockenes Filter filtriert und im 1 Dec.-Rohr polarisiert. Eine kleine Probe der Flüssigkeit wird mit der Trommerschen Probe auf ihr Reduktionsvermögen geprüft. Der Rest wird mit 0,5 ccm 50%iger Essigsäure und 8 Tropfen Phenylhydrazin etwa 1 Stunde im kochenden Wasserbade erhitzt. Dann bleibt die Probe einige Stunden stehen; hierauf wird das Osazon mikroskopisch untersucht.

In entsprechender Weise werden Proben mit Lävulose und gelegentlich auch mit Traubenzucker aufgestellt.

R_1 bedeutet das nach etwa 24 Stunden untersuchte Gemisch von Serum und Rohrzucker. R_2 eine nach 48 Stunden untersuchte Probe, entsprechend L_1 und L_2. Die Kontrollprobe drehte, da der Zucker nicht genau abgewogen wurde, R + 18 bis 25′. L — 15 bis 18′.

Die Rohrzuckerlösung gab bei $1^1/_2$ stündigem Erhitzen mit Essigsäure und Phenylhydrazin oder auch essigsaurem Natrium und salzsaurem Phenylhydrazin eine gewisse geringe Menge von Glucosazon auch bei Anwendung von Rohrzucker, der aus Wasser umkrystallisiert war.

Prüfung auf Amylase: 0,5 ccm Blutserum wurden mit 4,5 ccm gemischt, also auf das 10 fache verdünnt. Von dieser Verdünnung wieder 0,5 mit 4,5 ccm usw. Von jeder der Verdünnung wurden 0,5 mit 4,5 einer 1%igen Stärkelösung und 1 Tropfen Toluol gemischt. Diese Mischung wird als $A\,10^{-1}$ bezeichnet; die Probe mit dem hundertfach verdünnten Serum als $A\,10^{-2}$ usw. Nachdem die Proben bis zum folgenden Tage im Wärmeschrank gestanden haben, wird mit Jod geprüft.

Hund I. 26,5 kg.

1913.

10. X. 5 ccm 10%ige Rohrzuckerlösung in die Vene. Blutentnahme nach einer halben Stunde, kein Invertin. $A\,10^{-1}$ gelb. $A\,10^{-2}$ braun.

13. u. 14. X. je 20 g Rohrzucker in die Vene. 14. X. kein Ferment.

20. X. R_1 — 14′ starke Reduktion, Brei von Glucosazon. R_2 — 10′. $A\,10^{-3}$ gelb.

27. X. R + 15′, keine Reduktion. $A\,10^{-2}$ gelb.

30. X. 20 g Rohrzucker in die Vene.
Kein Invertin. A 10^{-1} gelb.
31. X. 369 ccm Harn $\alpha + 9'$, wenig Glucosazon in kleinen Krystallen. 1. X. 710 ccm Harn $\alpha \pm 0{,}0$.
3. XI. 20 g Rohrzucker in die Vene, kein Invertin.
A 10^{-1} gelb.
4. XI. 20 g Rohrzucker in die Vene, kein Invertin.
A 10^{-1} gelb.
5. XI. 2360 ccm Harn $\alpha + 28'$, wenig Glucosazon.
6. XI. 930 ccm Harn $+ 7'$, geringes atypisches Osazon.
10. 18. 24. XI. kein Invertin u. a.[1])
1. XII. ca. 20 g Rohrzucker in die Vene, kein Invertin u. a.
3. XII. ca. 15 g Rohrzucker in die Vene, kein Invertin u. a.
4. XII. 1750 ccm Harn $\alpha + 33'$, typisches Glucosazon und wenig kuglige Massen.
5. XII. 1950 ccm Harn $\pm 0{,}0$, Glucosazon. Gärung 0,25%.
11. 16. 22. 27. XII. 14. 8. I. 15 kein Invertin.
12. I. 15. Gewicht 22,5 kg. 20 g Rohrzucker in die Vene.
14. 15. 16. I. 15 je 20 g Rohrzucker in die Vene.
17. 18. 23. 29. I., 2. u. 9. II. kein Ferment.
9. bis 17. II. täglich 100 g Rohrzucker im Futter.
16. II. kein Ferment.
18. 19. 20. 21. II. 20 g Rohrzucker in die Vene. 19. bis 21. II. auch 100 g Rohrzucker täglich im Futter.
25. II. kein Ferment.

Hund II. 12 kg. weiblich.

1914.
16. 17. 18. III. je 12 g Rohrzucker in die Vene.
23. 30. III., 6. IV. kein Ferment.
7. 8. 9. IV. je 12 g Rohrzucker in die Vene.
9. IV. 1305 ccm Harn $\alpha + 1^{0} 18'$, starke Reduktion, reichlich Glucosazon.
10. IV. 970 ccm Harn $\alpha + 4'$, Reduktion, weniger Glucosazon und sehr geringe Menge gelber, aus feinen Nadeln bestehender Kugeln.
15. 17. 24. IV. kein Ferment.

---

[1]) u. a. = keine Wirkung auf Lävulose, keine Vermehrung der Amylase.

9. V. ca. 25 g Rohrzucker in die Vene.
13. 25. V., 8. VI. kein Ferment.
13. VI. Serum: R + 5′, reduziert sehr stark, nur Glucosazon, L + 30′ nur „Glucosazon", kein Harn.
14. u. 15. VI. 25 g Rohrzucker in die Vene.
15. VI. Blutprobe bleibt über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. R_1 — 24′. R_2 — 18′ starke Reduktion, Glucosazon. L — 14 nur Glucosazon.
16. VI. 855 ccm Harn α + 47′, reduziert (entsprechend etwa 1 %), der Harn enthält also anscheinend Rohrzucker und Invertzucker.
17. VI. Blutprobe: bald nach der Gerinnung und auch nach dem Stehen bis zum folgenden Tage kein Ferment.
19. VI. Blutprobe in 0,8 % ClNa aufgefangen, defibriniert, zentrifugiert, kein Ferment. Serum am folgenden Tage kein Ferment.
8. 9. 10. VII. je 30 g Rohrzucker in die Vene.
9. VII. kein Ferment.
13. VII. bald nach der Gerinnung kein Ferment; nachdem das Blut bis zum folgenden Tage gestanden R ± 0,0; starke Reduktion.
15. VII. kein Ferment, Serum ist durch Säuren oder Alkali nicht zu aktivieren.
22. 28. VII. kein Ferment.
6. VIII. Blut steht bis folgenden Tag. A 10^{-2} gelb. R_1 + 22′, keine Reduktion L_1 — 14′.
R_2 + 58′, starke Reduktion, wenig Glucosazon, Kugeln aus Nadeln.
L_2 + 23′, „Glucosazon" mit Kugeln bewachsen und dünnen gelben Plättchen.
3. 4. 5. IX. je 30 g Rohrzucker in die Vene.
6. IX. 470 ccm Harn α + 2° 18′. Reduktion. Nach dem Erhitzen mit essigsaurem Phenylhydrazin reichliches pulveriges Sediment, kein Glucosazon, sondern nur undeutlich krystallinische Kugeln. Beim Erhitzen mit Wasser löst sich der größte Teil, beim Erkalten Kugeln aus dünnen Plättchen.
7. IX. 580 ccm Harn α + 1° 58′, bald eintretende Nachreduktion.
14. IX. Blut abends, Serum am folgenden Tag. A 10^{-1} schwach braun, ohne Zusatz R_1 + 5 bis 6′, R_2 + 3′ nur Glucosazon, mit Toluol R_1 ± 0,0, R_2 — 22 nur Glucosazon.

20. 25. 30. IX., 6. X. kein Ferment.

12. X. Blut A 10^{-1} violett. $R_1 + 18'$ keine Reduktion. $L_2 - 14'$. $R_2 + 2^0 12'$ (?!) fast nur Glycosazon, in heißem Wasser wenig löslich. $L_2 - 14'$.

Dasselbe Serum, nachdem es im Kühlen gestanden hatte, am 16. X. $R_1 + 1^0 28'$, sehr starke Reduktion, verhältnismäßig wenig Glucosazon. $L_1 - 9$ bis $10'$.

18. X. Blut $R_1 + 1^0 35'$. $L_1 - 14'$. $R_2 + 1^0 9'$. $L - 12'$.

Eine größere Menge dieses Blutes wird mit Rohrzucker aufgestellt; es gelingt nicht, den Grund für die starke Rechtsdrehung festzustellen.

25. X. Blut, kein Ferment, vergebliche Versuche, es zu aktivieren.

2. XI. Der Hund erhält 5 ccm Serum des Kaninchens XXVIII vom 1. XI. 14. 12^h Injektion. 5^h Blutentnahme. Das Blut steht bis zum folgenden Tage, kein Ferment.

27. XI. Blut ohne Wirkung auf Traubenzucker und ein Gemisch von gleichen Teilen Lävulose und Galaktose.

18. 19. XII. 12 g Rohrzucker in die Vene.

20. 21. 22. XII. je 20 g Rohrzucker subcutan, nachmittags Abort.

24. 28. XII., 6. I. 15 kein Ferment.

19. I. 15 Blut A 10^{-1} gelb. $R_1 + 20'$, starke Reduktion, Glucosazon wenig bewachsen. $R_2 + 16$ bis $17'$. L_1 u. $L_2 - 15'$.

9. II. Blut A 10^{-1} gelb. $R_2 + 26'$, starke Reduktion. $L_2 - 15'$.

2. III. 8^h morgens stark mit Kartoffeln u. a. gefüttert. 3 bis 4^h nachmittags Blut defibriniert, mit gleichem Volumen 0,8% ClNa zentrifugiert, ohne Wirkung auf Rohrzucker, Traubenzucker, Lävulose.

45 ccm Serum mit 15 g Traubenzucker und 0,5 g FNa, keine Änderung des Drehungsvermögens (keine „Glucese").

5. III. Blut vor der Fütterung. 45 g Serum mit 15 g Traubenzucker und 0,5 g FNa, keine Änderung der Drehung (keine „Glucese").

Hund III. 18 kg.

1914.

23. 24. 25. III. je 18 g Rohrzucker in die Vene.

30. III., 6. 15. 17. IV. kein Ferment.

18. IV. 27 g Rohrzucker in die Vene.

Harn in untergehaltener Schale aufgefangen, reduziert und dreht nicht.
19. IV. (Harn reduziert und dreht nicht).
20. und 21. IV. je 27 g Rohrzucker in die Vene, kein Ferment.
22. IV. Der Morgenharn reduziert und dreht nicht.
27. IV., 4. V. kein Ferment.
5. bis 8. V. täglich 27 g Rohrzucker in die Vene.
6. V. Der Morgenharn dreht $\alpha + 2^0 55'$, reduziert nicht.
7. V. Harn reduziert und dreht nicht.
8. V. Harn morgens dreht und reduziert nicht. Nachmittags $\alpha + 1^0 35'$.
11. V. kein Ferment.
16. V. Gewicht 20,2 kg. Pankreasexstirpation.
19. V. Harn nach Drehung und Reduktion 2,5 % Traubenzucker 25 g Rohrzucker in die Vene.
260 ccm Harn $\alpha + 4^0 17'$. Reduktion: 2,8 % Traubenzucker. Gärung 7,2 % fast nur Glucosazon.
20. V. 1810 ccm Harn $\alpha + 58'$. Reduktion 1,4 % Traubenzucker.
21. V. 510 ccm Harn $\alpha + 1^0 40'$. Reduktion 2 % Traubenzucker, nur Glucosazon.
Hund tot, Infarkt am Pylorus. Blut aus dem Herzen enthält reichlich Zucker und Glucosazon. Serum ohne Wirkung auf Rohrzucker und Lävulose.

Hund IV. 22,5 kg, männlich.

1914.
8. VI. 15 g, 9. VI. 25 g Rohrzucker in die Vene.
10. VI. ca. 14 ccm Rohrzucker unter die Haut, im Blut kein Ferment.
640 ccm Harn $\alpha + 51'$, reduziert nicht (8,2 g Rohrz.).
11. VI. 610 ccm Harn $\alpha + 1^0 5'$, starke Nachreduktion (10,1 g Rohrzucker).
12. VI. 1175 ccm Harn $\alpha + 26'$ bald eintretende starke Nachreduktion (7,1 g Rohrzucker).
13. VI. 1035 ccm Harn $\alpha + 10'$ (2,65 g Rohrzucker).
16. VI. Blut: A 10^{-3} gelb. Kein Invertin.
20. 25. VI. kein Ferment.
1. VII. ca. 30 g Rohrzucker in die Vene, kein Ferment.
3. VII. kein Ferment.

4. VII. ca. 33 g Rohrzucker in die Vene.
170 ccm Harn, reduziert, Glucosazon.
$\alpha + 4^0 30'$ (6,8 $^0/_0$ Rohrzucker). Gärung 11,4 $^0/_0$.
5. VII. kein Harn.
6. VII. 1225 ccm Harn. $\alpha + 1^0 15'$.
7. VII. 2150 ccm Harn. $\alpha + 3$ bis 4'.
13. VII. Blut. Das bald abgehobene Serum unwirksam, nachdem es bis zum folgenden Tage über dem Blutkuchen gestanden $R_1 - 2'$, starke Reduktion.
15. VII. kein Ferment; Aktivierungsversuche vergeblich.
17. 20. III. kein Ferment.
20. bis 30. VII. täglich 30 g Rohrzucker in die Vene.
31. VII., 19. VIII. kein Ferment.
23. VIII. Blutentnahme abends. Serum am folgenden Tage.
A 10^{-3} gelb. $R_1 + 15'$. $R_1 - 5'$ nur Glucosazon
$L_1 - 14'$. $L_2 - 14$ " "
30. VIII. Serum am Tage nach der Blutentnahme
A 10^{-3} gelb. $R_1 - 2'$. $R_2 - 2'$ nur Glucosazon
$L_1 - 14'$. $L_2 - 7'$ " "
14. IX. A 10^{-1} braun. A 10^{-2} blau.
$R_1 + 3'$. $R_2 - 31'$ nur Glucosazon
$L_1 - 14'$. $L_2 - 10'$ " "
20. 25. 30. IX. Serum, kein Ferment.
6. X. A 10^{-1} gelb. $R_1 + 17'$. Spur Reduktion $L_1 - 14'$.
12. X. A 10^{-1} violett. $R_1 + 17'$ schwache Reduktion, $R_2 - 27'$ starke Reduktion, nur Glucosazon, $L_2 - 14'$, beim Stehen des Serums verschwindet die Invertinwirkung.
18. 25. 27. X. kein Ferment.
29. X. Um $11^h 45'$ werden dem Hunde 5 ccm Serum von Kaninchen 25 (s. u.) in die Vene gespritzt. 1 Stunde später wird eine Blutprobe entnommen, die nach 3 bis 4 Stunden zentrifugiert wird.
30. X. A 10^{-1} bis 10^{-8} gelb. $R_1 + 2^0 12'$. $L_1 - 14'$.
R $10^{-1} + 1^0 49'$; $10^{-2} + 1^0 22'$; $10^{-3} + 1^0 5'$; 10^{-5} bis $10^{-8} + 26'$ (keine Reduktion).
31. X. 7^h morgens Blut entnommen, 12^h zentrifugiert, 5^h nachmittags mit Stärke und Rohrzucker.
1. XI. A 10^{-1} bis 10^{-5} gelb. 10^{-6}? 10^{-7} blau. 10^{-8} blau.
R $10^{-1} + 2^0 23'$ (nicht enteiweißt $+ 2^0 24'$); $10^{-2} + 2^0 19'$

(nicht enteiweißt + 1° 38′); 10^{-3} + 1° 36′; 10^{-4} + 1° 54′; 10^{-5} bis 10^{-8} (keine Reduktion).

R 10^{-1} bis 10^{-4}. Osazonniederschläge geringer als bei Kaninchen 25: Glucosazon und mehr oder weniger amorphe Kugeln. Niederschlag aus heißem Wasser umkrystallisiert, aus dem Filtrat Sterne aus Nadeln bzw. Plättchen.

2. XI. kein Ferment.

3. 4. 5. XI. täglich 30 g Rohrzucker in die Vene.

5. XI. Harn + 4° 42′ Nachreduktion.

6. XI. Harn + 5° 29′ keine Reduktion. Blut schwer gerinnbar, kein Ferment.

7. XI. Harn + 2° 7′ keine Reduktion.

14. 23. XI. kein Ferment.

24. XI. bis 10. XII. täglich 30 g Rohrzucker in die Vene.

3. XII. A 10^{-1} violett, kein Invertin.

7. XII. A 10^{-1} gelbbraun, kein Invertin.

19. XII. A^{-1} schwach violett. R_1 + 25′ schwache Reduktion L_1 — 14′.

28. XII. u. 6. I. A 10^{-1} gelb, kein Ferment.

Kaninchen I. 3,2 kg.

1913.

27. 29. 30. IX. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.

29. IX. 130 ccm Harn $\alpha \pm 0{,}0$.

30. IX. 118 ccm Harn α + 27′ (0,8 g Rohrz.).

1. X. 190 ccm Harn α + 1° 36′ (4,3 g Rohrz.).

2. X. 157 ccm Harn α + 44′ (1,7 g Rohrz.).

6. X. Blut A 10^{-1} bis 10^{-8} gelb. R^1 + 53′ R_2 + 2° 33′. Osazon in heißem Wasser löslich. Beim Erkalten Kugeln aus Nadeln.

7. X. 7,5 g Rohrzucker subcutan.

8. X. 270 ccm Harn α + 1° 27′ (5,7 g Rohrz.), keine unmittelbare Reduktion.

9. X. 395 ccm Harn α + 40′ (3,9 g Rohrz.), Lactosazon, starke Reduktion.

10. X. 425 ccm Harn α + 27′ starke Reduktion. Harn mit Bleiacetat. Filtrat mit H_2S, ein Teil mit der berechneten Menge Essigsäure und Phenylhydrazin. Osazon 11,86 %. Aus heißem Wasser 2 mal umkrystallisiert 10,81 % N. Kugeln

aus gebogenen Nadeln und sehr schmalen, langen, schwefelgelben Plättchen (Lactosazon und Galaktosazon).

11. X. 337 ccm Harn $\alpha + 7'$.

13. X. Blut A 10^{-3} gelb, 10^{-4} schwach braun, 10^{-5} blau, $R_1 + 14'$. $R_2 + 27'$ sehr reichlich Glucosazon und Lactosazon.

15. X. Kaninchen tot. Gewicht 2,95 kg. Harn aus Blase dreht und reduziert nicht. Blut aus großen Gefäßen. A 10^{-1} bis 10^{-5} gelb, 10^{-6} blau. $R_1 + 54'$. $R_2 + 3^0\,7'$. Aus 3 ccm des Gemisches (0,5 Serum, 0,5 ccm $10\,^0/_0$ Rohrzucker, 8 Wasser) 0,4023 g Osazon.

Kaninchen II. 2,4 kg.

1913.

27. 29. 30. IX. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.

30. IX. 114 ccm Harn $\alpha + 2^0$ (3,4 g Rohrz.).

2. X. 130 ccm Harn $\alpha + 1^0\,43'$ (3,3 g Rohrz.).

3. X. 70 ccm Harn $\alpha + 5'$ (0,3 g Rohrz.).

4. X. 79 ccm Harn $\alpha \pm 0{,}0$.

6. X. Blut kein Invertin.

13. X. Blut A 10^{-1} braun. 10^{-2} blau. $R_1 - 24'$ Brei von Glucosazon. $R_2 - 38'$.

20. X. Blut A 10^{-1} bis 10^{-3} gelb. $R_1 - 12$. $R_2 - 18$. Glucosazon.

27. X. Blut A 10^{-1} braun. 10^{-2} blau. $R_1 + 14$ sehr wenig Glucosazon. $L_1 - 9'$.

29. X. Gewicht 2,5 kg. 5 g Rohrzucker in die Vene.

30. X. Blut A 10^{-1} violett. $R_1 + 13'$ keine Reduktion. $L_1 - 23'$.
103 ccm Harn $\alpha + 4^0\,34'$. Lohnstein $8{,}6\,^0/_0$, anscheinend nur Glucosazon, entbleit, eingeengt, mit MgO geschüttelt, filtriert $\alpha + 5^0\,57'$. Probe auf das 10 fache verdünnt; 10 Fehling reduziert von 11,2 ccm. Rest vergoren, mit konz. Salpetersäure Schleimsäure (Schmp. 213 bis 214°, Pyrrolreaktion).

31. X. 240 ccm Harn $\alpha + 21'$ wenig Glucosazon.

1. XI. 260 ccm Harn $\alpha + 6'$ spärl. atyp. Glucosazon.

2. XI. Blut A 10^{-3} gelb. $R_1 + 46'$ nur Lactosazon, vollkommen löslich. $L_1 + 17'$ Glucosazon und reichlich Lactosazon.

4. XI. Blut A 10^{-1} gelb. $R_1 + 23'$, nur wenig Lactosazon. $L_1 - 6'$.

13. XI. Blut A 10^{-1} rotblau, keine Wirkung auf R und L.

21. XI. Blut A 10^{-3} gelb. 10^{-4} blau. $R_1 + 16'$ starke Reduktion.

Glucosazon und reichlich Lactosazon. $L_1 + 18'$ Glucosazon und Lactosazon.

2 ccm dieses Serums am 22. XI. in die Vene von Kaninchen V.

29. XI. Kaninchen elend. Gewicht 1,85 kg.
Blut A 10^{-1} braun. 10^{-2} blau. $R_1 + 56$. Reduktion. Osazon gering. $R_2 + 1^0 6'$ starke Reduktion, wenig amorph. Osazon. L_1 u. $L_2 + 27'$ Glucosazon und amorphe Massen.

12. XII. Gewicht 1,52 kg trotz anscheinend guten Fressens. A 10^{-1} braun. 10^{-2} violettblau. 10^{-3} blau. $R_1 + 11'$, $R_2 + 13'$. Reduktion sehr schwach. $L_1 - 18'$. $L_2 - 18'$.

18. XII. Gewicht 1,21 kg, moribund. Blut durch Halsschnitt. A 10^{-1} blaurot. $R_1 + 13'$ keine Reduktion $L - 19'$.

Kaninchen III. 4 kg.

1913.

9. 10. 11. X. 7,5, 5 und 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
10. X. 367 ccm Harn $\alpha + 3'$ (0,07 g Rohrz.).
11. X. 212 ccm Harn $\alpha + 3^0 10'$ (10,2 g Rohrz.).
12. X. 356 ccm Harn $\alpha + 49'$ (4,2 g Rohrz.).
13. X. 167 ccm Harn $\alpha \pm 0,0$.
16. X. Blut A 10^{-1}. $R_1 + 8'$ keine Reduktion.
22. X. A 10^{-1}. $R_1 + 11'$ " "
23. X. Gewicht 2,95 kg. 5 g Rohrzucker in die Vene.
108 ccm Harn $\alpha + 1^0 48'$ (2,95 g Rohrz.), reichlich Glucosazon.
24. X. 289 ccm Harn $\alpha + 32'$ (2,3 g Rohrz.), Glucosazon und Lactosazon.
25. X. 148 ccm Harn $\alpha + 5'$ (0,1 g Rohrz.).
Blut A 10^{-1}. $R_1 + 50'$ nur Lactosazon. $L_1 + 1^0 8'$ Glucosazon und sehr reichlich Lactosazon.
26. X. Kaninchen sterbend. Blut aus Carotis.
A 10^{-4}. $R_1 + 54$. $L + 1^0 5'$. Glucosazon und Lactosazon.
27. X. 15 ccm Serum, 15 g Lävulose, 100 Wasser, 0,75 Toluol.
8. XI. 13,2 g Milchzucker (s. diese Zeitschr. 61, 465, Präparat II.).

Kaninchen IV. 3 kg.

1913.

22. 23. 24. X. 7,5 g, 5 g und 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
23. X. 273 ccm Harn $\alpha + 2^0 8'$ (8,6 g Rohrz.), Nachreduktion.
24. X. 131 ccm Harn $\alpha + 3^0 49'$ (7,5 g Rohrz.), Glucosazon.
25. X. 134 ccm Harn $\alpha + 4^0 32'$ (9,1 g Rohrz.), Glucosazon.

Blut A 10^{-1} violett. $R^1 + 8_1$ starke Reduktion, Glucosazon.
$R_2 + 12'$ Glucosazon und Lactosazon.

26. X. 72 ccm Harn $\alpha + 1^0 35'$ Glucosazon reichlich.

27. X. 60 ccm Harn $\alpha + 5^0 4'$, Glucosazon und Lactosazon.

28. X. kein Harn.

29. X. 5 g Rohrzucker in die Vene.
271 ccm Harn $\alpha + 10'$. Mit essigsaurem Phenylhydrazin geringes amorphes Sediment.

30. X. 40 ccm Harn $\alpha + 9^0 30'$. Glucosazon und Lactosazon.
Blut A 10^{-1} violett. $R_1 + 12$ wenig Glucosazon, mehr Lactosazon.

31. X. 246 ccm Harn $\alpha + 28'$. Glucosazon und Lactosazon.

1. XI. 345 ccm Harn $\alpha + 3'$ kein Osazon.
Blut A 10^{-3}. $R_1 + 37'$ lösliches Osazon. $L_1 + 24'$. Glucosazon und reichlich Lactosazon.

4. XI. Blut A 10^{-2}. $R_1 + 38'$ starke Reduktion, nur Laktosazon beim Erhitzen löslich. L $\pm$ 0,0 Glucosazon und Lactosazon.

8. XI. Gewicht 2,3 kg, aus Carotis entblutet. Hydrops peritonei, nicht zuckerhaltiges Blut und Peritonealflüssigkeit ohne Wirkung auf Rohrzucker und Lävulose; ersteres auch nicht nach Zusatz von normalem Meerschweinchenserum.

Kaninchen VI.

1913.

12. 13. 14. XI. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.

18. XI. Im Blut kein Ferment. Harn nur geringes Sediment. (Lactosazon?)

20. XI. Harn starke Reduktion während des Erhitzens, lösliches Osazon, aus heißem Wasser in Sternen aus schwefelgelben, dünnen Plättchen.

21. XI. tot.

Kaninchen VII. 2,53 kg.

1913.

12. 13. 14. XI. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.

15. XI. Harn mit Bleiacetat behandelt usw. $\alpha + 2^0 41'$ (3,6 $^0/_0$ Rohrz.). Lohnstein 4,4 $^0/_0$ Traubenz.
Osazon: Glucosazon und Lactosazon.

17. XI, Harn $\alpha \pm 0,0$, nur Lactosazon.
Blutserum A 10^{-1} braun, kein Invertin.

18. XI. 5 g Rohrzucker.
19. XI. 150 ccm Harn $\alpha + 2^0 36'$ (3,8 %$_0$ Rohrz.), starke Reduktion. Lohnstein schnell bis 3 %$_0$, nur Lactosazon. Nachweis von Schleimsäure.
20. XI. 213 ccm Harn $\alpha + 1^0 10'$ starke Reduktion, kein Glucosazon, nur Lactosazon.
21. u. 22. XI. Harn dreht und reduziert nicht.
25. XI. Tot, Gewicht 2,4 kg.

Kaninchen VIII.

1913.
1. XII. 2,5 ccm Serum von Kaninchen II in die Vene.
2. XII. Blutserum: A 10^{-2} gelb. 10^{-3} blau. $R_1 + 1^0 13'$. $L_1 + 47'$ Gemisch von Glucosazon und Lactosazon $R_2 + 1^0 9'$. Glucosazon spärlich bewachsen. $L_2 + 30'$ Glucosazon bewachsen.
4. XII. Blutserum: A 10^{-1} blaurot. $R' + 14'$ reduz. wenig Glucosazon. L — 20'. R 10^{-1} starke Reduktion. R 10^{-2} keine Reduktion.

Probe des Serums auf Kaninchen IX (s. dieses).
8. XII. 5 g Rohrzucker in die Vene.
9. XII. Harn 65 ccm $\alpha\, 2^0 56'$ (4,4 %$_0$ Rohrz.) Lohnstein. 7 %$_0$ Traubenz. typisches Glucosazon. (Blutserum, kein Ferment.)
10. XII. Harn 50 ccm $\alpha + 27'$ (0,68 %$_0$ Rohrz.) Lohnstein 1,45, Traubenz. typisches Glucosazon.
11. XII. Harn 60 ccm $\alpha \pm 0{,}0$. Osazon amorph.
12. XII. Harn 57 ccm $\alpha \pm 0{,}0$. Osazon z. T. in d. Hitze löslich. Lohnstein 0,15 %$_0$.
15. 22. XII. 8. I. Blutserum kein Ferment.
12. I. 15 g Rohrzucker in die Vene.
13. I. Gewicht 2,78 kg Harn 153 ccm $\alpha + 3^0 20'$.
14. I. Blutserum kein Ferment Harn 144 ccm $\alpha + 12'$. Osazon amorph.
15. I. Harn 154 ccm $\alpha \pm 0{,}0$.
23. I. 2. II. Blutserum: kein Ferment.
4. 5. 6. II. je 8 g. Rohrzucker subcutan.
5. II. Harn 56 ccm $\alpha + 5^0 11'$, nur Glucosazon.
6. II. „ 87 „ $\alpha + 16'$ „ „
7. II. „ 238 „ $\alpha + 1^0 2'$ „ „
8. II. „ $\alpha \pm 0{,}0$.

11. II. Blutserum. A 10^{-3}. R $\pm$ 0,0 Glucosazon. L — 18′.
16. II. „ kein Ferment.
17. 18. 19. II. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
19. II. Harn 130 ccm $\alpha + 3^0 2'$, wenig Glucosazon.
20. II. „ 130 „ $\alpha + 21'$ geringes amorphes Sediment.
21. II. „ 292 „ $\alpha \pm 0,0$.
25. II. Blutserum kein Ferment.
27. II. 8 g Rohrzucker subcutan.
28. II. Harn 205 ccm $\alpha + 1^0 35'$, Nachreduktion. Osazon: gelbes feinpulv. Sediment. Aus heißem Wasser einheitliche, schwefelgelbe Plättchen.
1. III. Harn 250 ccm $\alpha + 1^0 16'$, dunkel, fast klar, während des Erhitzens Ausscheidung von rotem Cu_2O, Osazon geringes feinpulv. Sediment.
2. III. Harn 110 ccm $\alpha \pm 0,0$, kein Osazon.
Gewicht 2,4 kg.
3. III. 8 g Rohrzucker subcutan.
4. III. tot. Harn aus der Blase reduziert sehr stark $\alpha + 11^0 47'$. Osazon von derselben Beschaffenheit wie oben. Die Schleimhaut des Dünndarms enthält nur Invertin.

Kaninchen IX.

1914.
4. XII. Erhält 3 ccm des Serums von Kaninchen VIII in die Vene.
5. XII, Blutserum kein Ferment.
8. XII. 10 g Rohrzucker in die Vene. Blutserum kein Ferment.
9. XII. Harn 130 ccm $\alpha + 3^0 51'$ (5,8 % Rohrzucker). Lohnstein 8,2 % Traubenzucker reichlich typisches Glucosazon.
10. XII. Harn 104 ccm $\alpha + 1^0 14'$ (1,8 % Rohrz.). Lohnstein 2,4 %. Glucosazonniederschlag geringer amorph. Massen, z. T. in heißem Wasser lösl., beim Erkalten z. T. Lactosazon.
11. XII. Harn 138 ccm $\alpha \pm 0,0$. Lohnstein 0,95 %. Osazon überwiegend amorph. Blutserum kein Ferment.
12. XII. Harn 186 ccm $\alpha - 2'$. Osazon amorph, z. T. in der Hitze löslich.
15. 22. 27. XII. 8. I. Blutserum kein Ferment.
12. I. 1914. 15 g Rohrzucker in die Vene.
13. I. Harn 138 ccm $\alpha + 4^0 38'$ reichlich Glucosazon.

14. I. Gewicht 3,2 Kilo 5 g Rohrzucker in die Vene. Blutserum kein Ferment. Harn 164 ccm $\alpha + 3'$. Osazon amorph.
15. I. 5 g Rohrzucker in die Vene.
Harn 130 ccm $\alpha + 1^0 12'$. Osazon gering amorph.
16. I. „ 218 „ $\alpha + 17'$. „ „
19. 23. 28. I. 2. 9. II. Blutserum: kein Ferment.
8. 9. 10. III. je 8 g Rohrzucker und am 11. 12. III. je 2 g Rohrzucker subcutan.
11. III. Harn 202 ccm $\alpha + 4^0 51'$, nur Glucosazon.
12. III. „ 185 „ $\alpha + 3^0 56'$, „ „
13. III. „ 125 „ $\alpha + 57'$ „ „
14. bis 17. III. je 3 g Rohrzucker subcutan.
18. III. tot. Harn aus Blase $+ 46'$, reduziert nicht. Osazon spärlich. Blutserum kein Ferment.

Kaninchen X. 3,2 kg.

1913.
18. 19. 20. XII. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
19. XII. Harn 35 ccm $\alpha + 1^0 16'$ (1,9 $^0/_0$ Rohrz.). Lohnstein 2,5 $^0/_0$ Traubenz. in 3 Stunden, nur Glucosazon. Blutserum kein Ferment.
21. XII. Harn 210 ccm $\alpha + 36'$ (0,9 $^0/_0$ Rohrz.). Lohnstein 1,6 $^0/_0$. reichlich Sediment von wenig typischem Glucosazon.
22. XII. Harn 135 ccm $\alpha + 24'$ (0,7 $^0/_0$ Rohrz.) Lohnstein 1,23 $^0/_0$.
23. XII. „ 123 „ $\alpha \pm 0{,}0$ „ „ „ 0,15 „
27. XII. Osazon teils amorph, teils kleine schwefelgelbe Sterne. Blutserum kein Ferment.
2. I. 14. tot. Gewicht 3,21 kg

Kaninchen XI.

1913.
18. 19. 20. XII. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
19. XII. Blutserum: kein Ferment. Harn 91 ccm $\alpha + 2^0 31'$ (3,8 $^0/_0$ Rohrz.) Lohnstein 4,8 $^0/_0$. Glucosazon, wenig amorphe Massen.
20. XII. Harn 57 ccm $\alpha + 3^0 11'$ (4,8 $^0/_0$ Rohrz.) Lohnstein 5,8 $^0/_0$. Glucosazon, wenig amorphe Massen.
21. XII. Harn 69 ccm $\alpha + 8'$ (0,2 $^0/_0$ Rohrz.) Lohnstein 0,75 $^0/_0$.
22. XII. „ 110 „ $\alpha \pm 0{,}0$ „ „ „ 0,25 „
Geringes meist amorphes Sediment.

23. XII. Harn 90 ccm $\alpha - 5'$. Lohnstein $0{,}45\,\%$. Osazon z. T. in heißem Wasser löslich, beim Erkalten kleine schwefelgelbe Sterne.

24. XII. Harn 155 ccm Lohnstein $0{,}15\,\%$.

27. XII. 8. 16. I. 14, im Blutserum kein Ferment.

18. I. 1,8 g Rohrzucker in die Vene, während der Injektion Chok.

19. 20. 21. I. je 8 g Rohrzucker subcutan.

20. I. Harn 166 ccm $\alpha + 2^{0}23'$, reichlich Glucosazon, spärlich Lactosazon.

21. I. 240 ccm $\alpha + 1^{0}20'$, reduziert stärker und unmittelbar nach dem Kochen, nur Glucosazon.

22. I. Harn 199 ccm $\alpha + 1^{0}37'$ starke Reduktion während des Erhitzens, kein typisches Glucosazon, fein kryst., ziemlich reichl. Sediment, Kugeln aus Nadeln. Aus heißem Wasser Sediment aus schwefelgelben, rhombischen Tafeln, z. T. gekreuzt. Schmp. 186 bis 187^{0}. $55{,}14\,\%$ C, $6{,}2\,\%$ H, 9,3 u. $9{,}9\,\%$ N.

23. I. Blutserum kein Ferment.
Harn 208 ccm $\alpha + 57'$ reduziert während des Erhitzens. Osazon geringer, aus heißem Wasser dieselben Tafeln wie am 22. I

24. I. Harn 238 ccm $\alpha \pm 0{,}0$.

28. I. Blutserum kein Ferment.

2. II. Blutserum $R_1 + 13'$ reduziert $L_1 - 18'$. $R_2 + 7'$ reduziert stark $L_2 - 18'$.

9. 13. II. täglich 10 g Rohrzucker in 50 ccm Wasser mit Schlundsonde.

9. 13. 14. 16. II. Blutserum kein Ferment.

4. III. tot. Gewicht 1,9 kg.

Kaninchen XII. 2,95 kg.

1914.

2. 3. 4. II. je 8 g Rohrzucker subcutan.

5. II.	Harn 63 ccm	$\alpha + 5^{0}28'$	(5,2 g Rohrzucker).
6. II.	„ 228 „	$\alpha + 35'$	(1,9 g „).
7. II.	„ 197 „	$\alpha + 4^{0}5'$	(12,1 g „).
8. II.	„ 185 „	$\alpha + 8'$	(0,21 g „).
9. II.	„ 190 „	$\alpha \pm 0{,}0$.	

9. bis 16. II. täglich 10 g Rohrzucker in 50 ccm Wasser mit Schlundsonde.

15. II. Blutserum kein Ferment.
17. 18. 19. II. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
19. II. Harn 150 ccm $\alpha + 1^0 23'$ (3,6 g Rohrzucker).
20. II. „ 80 „ $\alpha + 2^0 4'$ (2,5 g „).
21. II. „ 102 „ $\alpha \pm 0{,}0$.
26. II. 8 g Rohrzucker subcutan.
27. II. Harn 185 $\alpha + 1^0 5'$ (3,0 g Rohrzucker), wenig Glucosazon.
28. II. „ $\alpha \pm 0{,}0$.
4. 5. III. je 8 g Rohrzucker subcutan.
6. III. Blutserum kein Ferment.
Harn 175 ccm braun, wenig getrübt, $\alpha + 6^0 45'$ (17,8 g Rohrzucker!). 10 Fehlingsche Lösung reduziert von 6,8 ccm.
7. III. Harn 205 ccm $\alpha + 1^0 52'$ (6,7 Rohrzucker!). 10 Fehling reduziert von 15 ccm.
8. III. hat geworfen, Junge tot.
11. bis 18. III. je 2 g Rohrzucker subcutan.
11. III. Harn 185 ccm $\alpha + 6^0 10'$, wenig typisches Osazon.
12. III. „ 205 „ $\alpha + 2^0 24'$.
13. III. „ 106 „ $\alpha + 1^0 5'$.
18. III. tot. Blutserum kein Ferment.

Kaninchen XIII.

1914.
13. 14. 15. III. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
18. III. 20. IV. 5. V. im Blutserum kein Ferment.
9. bis 11. V. je 8 g und 13. bis 22. V. je 2 g Rohrzucker subcutan, im Harn anscheinend nur Rohrzucker.

Kaninchen XIV. 2,94 kg.

1914.
23. 24. 25. III. je 8 g Lävulose (Schering) subcutan.
25. III. Harn 270 ccm $\alpha - 22'$. Glucosazon.
26. III. Harn 130 ccm $\alpha - 15'$ (0,27 % Lävulose), Fehling 1 %.
27. III. Harn 90 ccm $\alpha - 4'$.
30. III. 6. IV. 15. IV. im Blutserum kein Ferment.
20. 21. 22. IV. je 8 g Lävulose subcutan.
23. IV. Harn 250 ccm $\alpha - 58'$ (1,0 % Lävulose), Fehling 1,3 %.
24. IV. Harn 300 ccm $\alpha \pm 0{,}0'$, keine Reduktion.
27. IV. Blutserum A 10^{-1} violett. R $+ 17'$, reduz. L $- 6'$.
4. 8. V. Blutserum kein Ferment.

13. V. Blutserum kein Invertin L — 9′.
26. 27. 28. V. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
27. V. Harn 205 ccm $\alpha + 1^0 45'$, nur Glucosazon.
4. VI. tot. Gewicht 2,43 kg.

Kaninchen XV.

1914.
23. 24. 25. III. je 8 g Lävulose subcutan.
25. III. Harn 190 ccm $\alpha - 5'$. Glucosazon. bewachsen, erheblicher Teil, in heißem Wasser löslich.
26. III. Harn 155 ccm $\alpha - 17'$ (0,3 $^0/_0$ Lävulose). 1 : 3 verdünnt, 10 Fehling reduziert von 7,3 ccm. Osazon bewachsen, beim Erhitzen zum Teil löslich, beim Erkalten gelbe Kugeln, die zum Teil aus derben Nadeln (Plättchen) bestehen. Alkoholextrakt gibt mit v. Brauns Reagens Fällung, Hydrazon mit Formaldehyd zerlegt, Lösung dreht rechts.
27. III. Harn 255 ccm $\alpha \pm 0{,}0'$, schwache Reduktion.
30. III. 6. u. 15. IV. im Blutserum kein Ferment.
26. 27. 28. IV. je 8 g Lävulose subcutan.
29. IV. Harn 175 ccm $\alpha + 2^0 41'$ (2,4 $^0/_0$ Galaktose, bzw. 3,9 $^0/_0$ Dextrose), Fehling 3 $^0/_0$ Dextrose, mit v. Brauns Reagens reichliche Fällung.
2. V. Harn 210 ccm, dreht und reduziert nicht, kein Osazon.
4. 15. 25. V. im Blutserum kein Ferment.
9. 10. 11. VI. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
11. VI. Harn 220 ccm $\alpha + 1^0 27'$ (4,8 g Rohrz.).
12. VI. Harn 195 ccm $\alpha + 1^0 23'$ (4,1 g Rohrz.).
13. VI. Harn 165 ccm $\alpha \pm 0{,}0$.
21. VI. Blutserum, nachdem das Blut bis zum folgenden Tage gestanden, A 10^{-1} bis 10^{-3} gelb bis braun. $R_1 \pm 0{,}0$, reduz. $L_1 - 14'$, $R_2 \pm 0{,}0$. $L_2 - 2$, nur Glucosazon.
26. VI. Blutserum bald nach der Gerinnung A 10^{-1} schwachviolett. A 10^{-2} blau. $R_1 + 17'$, $L_1 - 14'$, $R_2 - 2'$. $L_2 \pm 0{,}0$, nur Glucosazon.
27. VI. Blutserum, nachdem das Blut bis zum folgenden Tage gestanden hat, A 10^{-1} violett. A 10^{-2} blau. $R_1 + 26'$, keine Reduktion. $L_1 \pm 0{,}0$.

Kaninchen XVI. 2,97 kg, männlich.

1914.
30. 31. III. 1. IV. je 8 g Galaktose subcutan.

1. IV. Harn 68 ccm dunkelgefärbt, fast klar, verschieden vom Lävuloseharn. $\alpha + 2^0 37'$, starke Reduktion, Galaktosazon, in heißem Wasser unlöslich.
2. IV. Harn 210 ccm $\alpha + 31'$, starke Reduktion, Osazon geringes, undeutliche kryst. Sediment, meist unlöslich in Wasser, aus heißem Wasser geringes Sediment sehr kleiner gelber Kugeln.
3. IV. Harn 165 ccm $\alpha \pm 0{,}0$, keine Reduktion.
6. 15. 20. IV. Blutserum kein Ferment.
26. 27. 28. IV. je 8 g Galaktose subcutan.
29. IV. Harn 220 ccm $\alpha + 1^0 28'$ (1,8 $^0/_0$ Galaktose) Fehling 1,5 $^0/_0$. Alkoholextrakt mit v. Brauns Reagens Fällung (s. S. 56).
30. IV. Harn 125 ccm $\alpha + 1^0 5'$ (1,3 $^0/_0$ Galaktose) Fehling 1,2 $^0/_0$.
1. V. kein Harn. 2. V. 250 ccm $\alpha \pm 0{,}0$, kein Osazon.
8. 15. 25. V. Blutserum kein Ferment.
9. 10. 11. VI. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
10. VI. Harn 215 ccm $\alpha + 1^0 45'$ (5,65 g Rohrz.).
11. VI. Harn 225 ccm $\alpha + 1^0 2'$ (3,5 g Rohrz.).
12. VI. Harn 135 ccm $\alpha + 1^0 12'$ (2,4 g Rohrz.).
13. VI. Harn 225 ccm $\alpha + 4'$.
21. VI. Blutserum, am folgenden Tage abgehoben, kein Ferment.
24. 25. 26. VI. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
26. VI. Harn 170 ccm $\alpha + 1^0 58'$ (5,02 g Rohrz.).
27. VI. Harn 145 ccm $\alpha + 58'$ (2,10 g Rohrz.).
29. VI. Harn 160 ccm $\alpha \pm 0{,}0$.
1. VII. Blutserum kein Ferment.
3. VII. 7,5 g Rohrzucker in die Vene.
17. VII. Blutserum A 10^{-3} gelb, nur Invertin.
22. VII. Blutserum A 10^{-1} violett, kein Invertin.
25. VII. 7,5 g Rohrzucker in die Vene.
26. VII. Harn 155 ccm $\alpha + 2^0 45'$ (6,2 g Rohrz.).
27. VII. Harn 185 ccm $\alpha + 58'$ (2,7 g Rohrz.).
28. VII. Harn 130 ccm $\alpha \pm 0{,}0'$.
29. VII. Blutserum A 10^{-1} bis 10^{-3} gelb. $R_1 - 9'$, $R_2 - 2'$, $L_1 - 14'$, $L_2 - 14'$, nur Glucosazon.
6. u. 11. VIII. Blutserum kein Ferment.
12. 13. 14. VIII. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
14. VIII. Harn 145 ccm $\alpha + 2^0 5'$ (4,5 g Rohrz.).
15. VIII. Harn 90 ccm $\alpha + 4^0 27'$ (6,2 g Rohrz.).

16. VIII. Harn 220 ccm $\alpha + 2^0\,5'$ (6,9 g Rohrz.).
17. VIII. Harn 175 ccm $\alpha + 31'$.
20. VIII. Blut abends, Serum am folgenden Tage kein Ferment.
23. 24. 25. VIII. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
24. VIII. Harn 315 ccm $\alpha + 45'$ (3,5 g Rohrz.), reduziert, Fehling weniger als 0,5 %, nur Glucosazon.
25. VIII. Harn 190 ccm $\alpha + 1^0\,32'$ (4,4 g Rohrz.), Glucosazon.
27. VIII. Harn 120 ccm $\alpha + 1^0\,45'$ (4,7 g Rohrz.) und Nachreduktion.
28. VIII. Harn 180 ccm $\alpha + 47'$ (2,1 g Rohrz.).
29. VIII. Harn 160 ccm $\alpha \pm 0{,}0'$.
30. VIII. Blut abends, Serum am folgenden Tage A 10^{-1} schwach violett. $R_1 + 24'$ keine Reduktion. $L_1 - 14'$, $R_2 \pm 0{,}0$ starke Reduktion, nur Glucosazon. $L_2 - 14'$.
6. IX. Blutserum am folgenden Tage kein Ferment.
13. IX. tot. Gewicht 1,23 kg.
Blut aus Herz. Serum: A 10^{-1} bis 10^{-3} gelb. $R_1 + 35'$ reduziert stark, wenig Glucosazon, viel Kugeln, die aus Nadeln bzw. dünnen Plättchen bestehen $L + 0'$, $R_2 + 34'$, $L_2 + 10'$. Osazon aus heißem Wasser Kugeln, die aus dünnen, besonders am Rande gut sichtbaren Plättchen bestehen.

Kaninchen XVII.

1914.
30. 31. III. 1. IV. je 8 g Galaktose unter die Haut.
1. IV. Harn 92 ccm $\alpha + 58'$, dunkel, fast klar. Osazon nicht charakteristisch, fast völlig unlöslich in heißem Wasser, aus heißem Wasser geringes Sediment aus stark lichtbrechenden Kugeln und einigen durchsichtigen gelben Plättchen.
2. IV. Harn 260 ccm $\alpha + 37'$.
3. IV. Harn 260 ccm $\alpha \pm 0{,}0$, reduziert nicht. Osazon: geringes amorphes Sediment.
6. 15. 20. IV. Blutserum kein Ferment.
24. 25. 26. IV. je 8 g Galaktose unter die Haut.
27. V. Harn 235 ccm $\alpha + 1^0 27'$ (4,1 g Galaktose).
28. V. Harn 135 ccm $\alpha + 17'$ (0,49 g Galaktose).
2. VI. tot. Hydrops peritonei.

Kaninchen XVIII. 2,95 kg.

1914.
13. 14. 15. IV. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
15. IV. Harn 125 ccm $\alpha + 4^0 2'$ (7,6 g Rohrz.).
16. IV. Harn 130 ccm $\alpha + 2^0 58'$ (5,8 g Rohrz.).
17. IV. Harn 145 $\alpha + 3'$ (0,1 g Rohrz.).
22. 27. IV. 26. V. 9. VI. Blutserum kein Ferment.
14. VI. 5 g Rohrzucker in die Vene.
21. VI. Blutserum kein Ferment.
24. 25. 26. VI. je 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
26. VI. Harn 230 ccm $\alpha + 1^0 42'$ (5,9 g Rohrz.).
27. VI. Harn 195 ccm $\alpha + 1^0 37'$ (4,7 g Rohrz.).
29. VI. Harn 230 ccm $\alpha \pm 0,0$.
3. 13. VII. Blutserum kein Ferment.
18. VII. tot. Gewicht 2,4 kg.
Blutserum kein Ferment.

Kaninchen XIX. 3,12 kg.

1914.
13. 14. 15. IV. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
15. IV. 170 ccm Harn $\alpha + 3^0 35'$ (9,25 g Rohrz.).
16. IV. 205 ccm Harn $\alpha + 2^0 7'$ (6,25 g Rohrz.).
17. IV. 185 ccm Harn $\alpha + 0,0$.
27. IV. Blut $R_1 + 17'$ reduziert $L_1 - 3'$.
4. V. Blut A 10^{-1} blau. $R_1 + 28'$. $L_1 + 10'$ Glucosazon, Kugeln und Sterne aus Nadeln, aus heißem Wasser Sterne, die aus kleinen gelben Plättchen zusammengesetzt sind. $R_2 + 22'$ reduziert nicht (?) $L_2 + 17'$ weniger Glucosazon, aus heißem Wasser Kugeln und Sterne, die aus Nadeln bestehen.
7. V. Blut A 10^{-1}. $R + 26$. $L - 3'$ nur Glucosazon, keine Wirkung auf Traubenzucker.
10. 11. 12. V. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
12. bis 22. V. täglich je 2 g Rohrzucker subcutan.
12. V. 185 ccm Harn $\alpha + 1^0 28'$ (4,05 g Rohrz.), keine unmittelbare Reduktion.
13. V. 235 ccm Harn $\alpha + 3^0 25'$ (2 g Rohrz.).
14. V. 225 ccm Harn $\alpha + 1^0 28'$ (4,95 g Rohrz.).
15. V. 240 ccm Harn $\alpha + 52'$ (3,1 g Rohrz.).
16. V. 175 ccm Harn $\alpha \pm 0,0$.
17. V. 160 ccm Harn $\alpha + 42'$ (0,74 g Rohrz.).

18. V. 225 ccm Harn $\alpha + 39'$ (2,2 g Rohrz.).
19. V. 170 ccm Harn $\alpha + 26'$ (1,1 g Rohrz.).
20. V. 205 ccm Harn $\alpha + 35'$ (1,8 g Rohrz.).
21. V. 180 ccm Harn $\alpha + 27'$ (1,7 g Rohrz.).
22. V. 180 ccm Harn $\alpha + 34'$ (2,1 g Rohrz.).
24. V. durch Halsschnitt getötet. Blutserum ohne Wirkung auf Rohrzucker und Lävulose.

Kaninchen XX. 3,5 kg.

1914.
7. 8. 9. VI. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
18. VI. Blutserum kein Ferment.
20. VI. 7,5 g Rohrzucker in die Vene.
25. VI. Blutserum nach einigen Stunden. A 10^{-1} gelb, 10^{-2} rot, 10^{-3} blau. $R_1 - 26'$. $L_1 - 14'$. $R_2 - 19'$, nur Glucosazon.
29. VI. 8. VII. Blutserum am folgenden Tage, kein Ferment.
13. 14. 15. VIII. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
15. VIII. 165 ccm Harn $\alpha + 5^0 37'$ (13,4 g Rohrz.).
16. VIII. 85 ccm Harn $\alpha + 2^0 50'$ (3,6 g Rohrz.).
17. VIII. 175 ccm Harn $\alpha + 31'$ (1,3 g Rohrz.).
20. VIII. Blutserum am folgenden Tage kein Ferment.
23. 24. 25. VIII. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
30. VIII. 6. 13. 17. IX. Blutserum am folgenden Tage kein Ferment.
23. IX. tot. Gewicht 2,3 kg. (Pneumonie.)

Kaninchen XXI. 2,85 kg.

1914.
7. 8. 9. VI. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
15. VI. tot. (Pneumonie?) Blut aus Herz.
$R_1 + 2^0 56'$ (!), mit essigsaurem Phenylhydrazin, wenig Glucosazon und viel lösliches Osazon, letzteres zunächst in undeutlichen krystallinischen Kugeln. 2 mal aus heißem Wasser umgelöst. Sterne, die aus einem amorphen Zentrum und stark lichtbrechenden, zum Teil gebogenen Nadeln und durchsichtigen, dünnen schwefelgelben Plättchen bestehen.

Kaninchen XXII. 3,25 kg (weiblich).

1914.
28. 29. 30. VII. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker.
7. VII. Blut kein Ferment.

8. VII. 7,5 g Rohrzucker.

13. VII. Blut A 10^{-1} schwach violett. $R_1 + 26'$ reduziert, nur Glucosazon. $L_1 - 15'$. $R_2 + 26'$ reduziert, nur Glucosazon. $L_2 - 14'$.

20. VII. $R_1 + 21'$. $R_2 + 2'$ nur Glucosazon. L_1 und $L_2 - 14'$. Dasselbe Serum, nachdem es 1 Tag mit Toluol über dem Blutkuchen gestanden hat, ist unwirksam.

25. VII. kein Ferment.

27. 28. 29. VII. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker.

6. VIII. kein Ferment.

7. 8. 9. VIII. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker.

15. VIII. kein Ferment.

17. 18. 19. VIII. je 8 g Rohrzucker.

23. VIII. 15. 20. IX. kein Ferment.

22. 23. 24. IX. je 8 g Rohrzucker.

180 ccm Harn $\alpha + 4^0 32'$ (12,2 g Rohrz.), reduziert wenig.

205 ccm Harn $\alpha + 1^0 38'$ (5 g Rohrz.).

220 ccm Harn $\alpha + 6'$ (0,3 g Rohrz.).

30. IX. Gewicht 3,1 kg, moribund. Entblutet.

Harn aus Blase dreht stark rechts. Osazon aus heißem Wasser: Sterne aus gelben Tafeln.

Blutserum A 10^{-6} gelb. $R_1 + 1^0 3'$. $R_2 + 1^0 9'$. $L_1 + 1^0 23'$ $L_2 + 1^0 1'$. Glucosazon und Kugeln aus Nadeln.

Dasselbe Serum, nachdem es abgehoben bis zum folgenden Tage mit Toluol gestanden hat: A 10^{-6} gelb. R $10^{-1} + 56'$. R $10^{-2} + 40'$. R $10^{-3} + 33'$. R $10^{-4} + 33'$. R $10^{-5} + 29'$. R $10^{-6} + 29'$.

Kaninchen XXIII. 2,9 kg.

1914.

9. 10. 11. VII. Hunger.

12. 13. 14. VII. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.

14. VII. 220 ccm Harn $\alpha + 1^0 49'$ (6 g Rohrz.).

15. VII. 190 ccm Harn $\alpha + 48'$ (0,26 g Rohrz.).

16. VII. 115 ccm Harn $\alpha + 0{,}0$.

20. VII. Blut. A 10^{-1}. $R_1 + 22'$. $R_2 + 6'$, starke Reduktion. $L_1 - 14'$. $L_2 - 14$ nur Glucosazon.

Dasselbe Serum, nachdem es 1 Tag über dem Blutkuchen gestanden hat, unwirksam.

25. VII. kein Ferment.
27. 28. 29. VII. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
29. VII. Blut. Kein Ferment.
17. VIII. Blut. A 10^{-1} schwach violett. $R_1 - 8'$. $R_2 + 26'$ starke Reduktion, neben Glucosazon Kugeln aus Nadeln.
17. 18. 19. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
19. VIII. 235 ccm Harn $\alpha + 2^0 27'$ (8,7 g Rohrz.) keine direkte Reduktion.
20. VIII. 270 ccm Harn $\alpha + 53'$ (3,6 g Rohrz.).
21. VIII. 250 ccm Harn $\alpha + 0'$.
23. 25. VIII. Im Blut kein Ferment.
20. VIII. Blut abends, Serum am folgenden Tage. A 10^{-1}. $R_2 + 5'$. $L_2 - 14$ nur Glucosazon.
6. 12. IX. Blut abends, kein Ferment.
16. 17. 18. IX. je 8 g Rohrzucker.
24. IX. 6. 12. 19. 27. X. 11. XI. kein Ferment.
12. 13. 14. XI. je 8 g Rohrzucker.
16. 23. 30. XI. 11. 13. XII. kein Ferment.
13. 14. 15. XII. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker.
18. XII. Blut $R_1 + 25'$ schwache Reduktion. $L_1 - 8'$.
$R_2 - 28'$ Glucosazon und schmale lange Plättchen, auch Kugeln aus feinen Nadeln.
$L_2 + 1^0 18'$ nur „Glucosazon".
21. XII. Blut A 10^{-1} und 10^{-2} gelb. 10^{-3} blau.
$R_1 + 3'$. $R_2 - 5'$ sehr starke Reduktion, nur Glucosazon.
$L_1 + 8'$. $L_2 - 21'$ Glucosazon, wenig gelbe Massen und wenig Kugeln aus feinen Nadeln.
23. XII. Kaninchen liegt abends auf der Seite, durch Halsschnitt getötet. Kleine Föten im Uterus.
Blut. A 10^{-1} bis 10^{-3} gelb. 10^{-4} blau. R_1 und $R_2 \pm 0,0$. L_1 und $L_2 + 19'$. 3 ccm dieses Serums an Kaninchen XXXII.
24. XII. Dasselbe Serum A 10^{-1} bis 10^{-4} gelb.
R $10^{-1} \pm 0,0$. R $10^{-2} + 8'$. R $10^{-3} + 11$ reduziert stark.
R $10^{-4} + 24'$ reduziert sehr schwach.

Kaninchen XXIV.

1914.
19. bis 23. VII. je 8 g Lävulose unter die Haut.
28. VII. Blutserum kein Ferment.

28. bis 29. VII. je 8 g Lävulose unter die Haut.
6. VIII. Blutserum kein Ferment.
6. 7. 8. VIII. je 8 g Lävulose unter die Haut.
9. VIII. 350 ccm Harn $\alpha - 41'$ (0,97 % Lävulose) Fehling 1,14 %.
10. VIII. 230 ccm Harn $\alpha - 2^0 47'$ (2,9 % Lävulose) Fehling 3,4 %, nur Glucosazon.
11. VIII. 210 ccm Harn $\alpha - 19'$ (1,07 % Lävulose) nur Glucosazon.
12. VIII. 235 ccm Harn $\alpha - 45'$.
13. VIII. 275 ccm Harn $\alpha \pm 0{,}0$.
15. VIII. Blutserum kein Ferment.
23. VIII. Blut, Serum am folgenden Tage aufgestellt. $R_1 - 12'$ starke Reduktion, $L_1 - 14'$. $R_2 + 15'$ starke Reduktion. $L_2 - 14'$.
30. VIII. Blutserum, am folgenden Tage, kein Ferment.
6. 13. IX. Blutserum, am folgenden Tage, kein Ferment.
16. 17. 18. IX. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
18. IX. 230 ccm Harn $\alpha + 1^0 15'$ keine Reduktion.
19. IX. 245 ccm Harn $\alpha + 1^0 38'$ keine Reduktion.
20. IX. 195 ccm Harn $\alpha + 1^0 23'$ keine Reduktion.
21. IX. 180 ccm Harn $\alpha \pm 0{,}0$.
24. IX. 6. 12. 19. X. Blutserum, am folgenden Tage, kein Ferment.
27. X. Blutserum nach 4 Stunden kein Ferment.
11. XI. Blutserum nach 4 Stunden kein Ferment.
12. 13. 14. XI. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
16. 30. XI. 3. XII. Blutserum nach 4 Stunden kein Ferment. 2 ccm des Serums vom 3. XII. auf Kaninchen XXXI.
7. 8. 9. XII. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
8. XII. 105 ccm Harn $\alpha + 4^0 17'$ reduziert nicht.
9. XII. tot. Blut aus Herz. Kein Ferment.

Kaninchen XXV. 2,9 kg.

1914.
26. IX. 10 ccm einer 10 %igen Rohrzuckerlösung in die Vene.
27. 28. 29. IX. kein Ferment.
30. IX. 1. und 2. X. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
8. 16. X. kein Ferment.
19. 20. 21. X. je 8 g Rohrzucker in die Vene, nach der letzten Injektion anaphylaktische Erscheinungen.

22. X. Blut A 10^{-8} gelb. $R_1 + 2$. $R_2 - 5'$ nur Glucosazon. L — 14.

27. X. Gewicht 2,77 kg moribund, durch Halsschnitt getötet. A 10^{-1} bis 10^{-8} gelb. $R_1 + 2^0 32'$. $L_1 - 14$. R $10^{-1} + 2^0 5'$. R $10^{-2} + 1^0 15'$. R $10^{-3} + 1^0 17'$. R $10^{-4} + 1^0 22'$. R $10^{-6} + 1^0 25'$. R $10^{-8} + 1^0 30'$, kein Glucosazon, nur Kugeln aus dünnen Plättchen.

Kaninchen XXVI. 3 kg.

1914.

26. IX. 10 ccm $10^0/_0$iger Rohrzuckerlösung in die Vene.

27. 28. IX. Blutserum, am folgenden Tage, kein Invertin.

30. IX. 1. 2. X. je 8 g Rohrzucker in die Vene.

8. X. Blutserum, am folgenden Tage, kein Ferment.

19. 20. 21. X. je 8 g Rohrzucker in die Vene.

25. X. Blutserum, am folgenden Tage. A 10^{-1} blau. $R_1 + 26'$ schwache Reduktion. $R_2 + 22'$ starke Reduktion. L_1 und $L_2 - 15'$; nur Glucosazon.

2. XI. Blutserum nach einigen Stunden, kein Ferment.

8. XI. Blutserum, am folgenden, Tage kein Ferment.

10. 11. 12. XI. je 8 g Rohrzucker in die Vene.

17. XI. Blutserum A 10^{-1} blau. R_1 und L_1 keine Wirkung. $R_2 + 17'$ starke Reduktion. $L_1 - 14'$.

20. XI. Gewicht 3,37 kg, sterbend, Halsschnitt. Blutserum nach $4^1/_2$ Stunden. A 10^{-1} bis 10^{-3} gelb. Kein Invertin. Von diesem Serum am selben Tage 2,5 ccm an Kaninchen XXIX.

21. XI. Dasselbe Serum. A 10^{-1} bis 10^{-8} gelb. Kein Invertin.

Kaninchen XXVIII. 3,1 kg.

1914.

2. XI. erhält vormittags 2,6 ccm des Serums Hund IV von 1. XI. 14, nachmittags Blutserum kein Ferment.

4. 5. XI. je 8 g Rohrzucker in die Vene.

6. XI. 205 ccm Harn $\alpha + 2^0 58'$, starke Reduktion. 10 Fehling reduziert von 6,7 ccm, nur Glucosazon.
Blutserum, am folgenden Tage, kein Ferment.

7. XI. 145 ccm Harn $\alpha \pm 0{,}0$ nur Glucosazon.

14. XI. Blutserum nach 4 Stunden, kein Ferment.

15. 16. 17. XI. je 8 g Rohrzucker in die Vene.

24. 30. XI. 11. 15. XII. Blutserum nach 4 Stunden, kein Ferment.
Serum vom 11. XII. auf Kaninchen XXXII.
17. 18. 19. XII. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
28. XII. Blutserum kein Ferment.
29. XII. Gewicht 2,95 kg, tot.

Kaninchen XXX. 2,97 kg.

1914.
30. XI. 1. bis 8. XII. täglich je 8 g Lävulose in die Vene.
4. XII. 210 ccm Harn $\alpha - 1^0 40'$, nur Glucosazon, bei Oxydation mit Salpetersäure keine Schleimsäure.
5. XII. 175 ccm Harn $\alpha - 2^0 5'$ nur Glucosazon, keine Schleimsäure.
9. XII. Blutserum kein Ferment.
13. XII. tot. Blutserum ohne Wirkung auf Stärke, Rohrzucker, Lävulose, Galaktose.

Kaninchen XXXIII, männlich.

1915.
15. 16. 17. I. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
23. 28. I. 3. 9. II. Blutserum kein Ferment.
11. 12. 13. II. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
19. II. Blutserum A 10^{-1} blau. R $+ 25'$ schwache Reduktion. $R_1 + 18'$ schwache Reduktion. L_1 und $L_2 - 15'$.
26. 27. 28. II. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
5. III. Blutserum kein Ferment.
12. III. Blut. Abends tot.
Serum A 10^{-1} und 10^{-2} gelb. 10^{-3} blau. $R_1 \pm 0{,}0$. $R_2 - 5'$. L_1 und $L_2 - 15'$ nur Glucosazon.
Blut aus dem Herzen des toten Tieres mit dem gleichen Volumen, 0,8 $^0/_0$ ClNa-Lösung, zentrifugiert. Serum A 10^{-1} und 10^{-2} gelb. 10^{-3} blau. $R_1 \pm 0{,}0$. $R_2 - 1'$, L_1 und $L_2 - 15'$.

Kaninchen XXXIV.

1915.
15. 16. 17. I. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
23. I. Serum A 10^{-1} gelb. 10^{-2} blau. $R_1 + 25'$ keine Reduktion. $R_2 + 25'$ starke Reduktion. L_1 und $L_2 - 15'$.
28. I. 3. u. 10. II. Serum A 10^{-1} blau, kein Invertin.

11. 12. 13. II. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
19. II. Serum A 10^{-1} blau. $R_1 + 20'$ schwache Reduktion. $R_2 + 9'$ starke Reduktion. $L_1 - 15$. $L_2 + 5$.
25. II. Serum A 10^{-1} gelb. 10^{-2} schwach violett. 10^{-3} blau, kein Invertin.
26. 27. 28. II. 7,5 g, 5 g, 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
5. III. Serum kein Ferment.
7. III. tot. Blut mit dem gleichen Volumen 0,8 % ClNa. A 10^{-1} und A^{-2} gelb. $R_1 \pm 0{,}0$. $R_2 - 10'$. $L_1 - 15'$. $L_2 - 15'$ nur Glucosazon.

Kaninchen XXXVIII.

1915.
1. 2. 3. III. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
10. III. 7,5 g Rohrzucker in die Vene.
18. III. Blutserum A 10^{-1} und 10^{-2} gelb. 10^{-3} blau. $R_1 + 5'$. $R_2 \pm 0{,}0$ starke Reduktion. L_1 und $L_2 - 15'$.
23. III. Blutserum A 10^{-1} und 10^{-2} gelb. 10^{-3} blau. $R_1 + 10'$. $R_2 \pm 0{,}0$. L_1 und $L_2 - 15'$.
27. III. moribund. Blut durch Halsschnitt, steht im Kühlen bis zum folgenden Tage. A 10^{-1} bis 10^{-3} gelb.
$R_1 + 1^0 20'$ neben viel Glucosazon reichlich gelbe Massen, die in heißem Wasser löslich sind und beim Erkalten in Form von Kugeln aus stark lichtbrechenden Nadeln bzw. gelben Plättchen ausfallen.

Kaninchen XXXIX.

1915.
14. 15. 16. III. je 8 g Rohrzucker in die Vene.
23. III. A 10^{-2} gelb. $R_1 \pm 0{,}0$; reduziert $R_2 + 12'$. $L_1 - 15'$. $L_2 - 15'$. Nur Glucosazon.
29. III. A 10^{-2} gelb. $R_1 + 10'$; reduziert $R_2 \pm 0{,}0$. $L_1 - 15'$. $L_2 + 3'$. Nur Glucosazon.
20. IV. A 10^{-2} gelb. $R_1 + 9'$, starke Reduktion. $R_2 - 3'$. $L_1 - 15'$. $L_2 - 15'$.
21. IV. 7,5 g Rohrzucker in die Vene.
22. IV. 5 g Rohrzucker in die Vene. Kaninchen nach der Injektion matt.

23. IV. 2,5 g Rohrzucker subcutan.
25. IV. Abends tot. Blut aus Herz mit der doppelten Menge 0,8 % ClNa. A 10^{-5} (alle Proben) gelb. Keine Wirkung auf Rohrzucker.

Kaninchen XL.

1915.
23. IV. 8 g, 24. IV. 5 g, 25. IV. 2,5 g, 2. V. 7,5 g Rohrzucker in die Vene.
8. V. A 10^{-1} blau. $R_1 + 20'$ keine Reduktion. $L_1 - 20'$.
14. V. A 10^{-1} blau. $R_1 + 20'$ keine Reduktion. $L_1 - 20'$. R_2 und L_2 ebenso.
17. V. 8 g Rohrzucker subcutan.
18. V. A 10^{-1} blau, kein Invertin. Harn reduziert nicht.
20. V. Gewicht 2,69 kg.
21. V. A 10^{-1} blau, kein Invertin.
25. V. Gewicht 2,71 kg. Tot.

Kaninchen XLI.

1915.
23. bis 25. IV. 7,5, 5 und 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
8. 14. 17. V. kein Ferment.
17. V. 8 g Rohrzucker subcutan.
20. V. Gewicht 2 kg, kein Ferment.
29. V. Gewicht 2,28 kg. 30. V. kein Ferment.
31. V. 4 g. 1. VI. 7 g Rohrzucker in die Vene.
7. und 14. VI. kein Ferment.
15. 16. 17. VI. 8 g Lävulose subcutan.
24. VI. kein Ferment.
30. VI., 1. und 2. VII. ca. 8 g Lävulose subcutan.

Kaninchen XLII.

1915.
23. bis 25. IV. 7,5, 5 und 2,5 g Rohrzucker in die Vene.
7. V. tot. A 10^{-1} blau, kein Invertin, auch nicht in dem Blut, das einen Tag gestanden hat.

Versuche von T. Kumagai.

Kaninchen I. 31. X., 3. XI., 4. XI. 1914 je 8 g Rohrzucker in die Vene.

6\. XI. Blut nach 4 Stunden zentrifugiert
A 10^{-1} gelb. A 5. 10^{-2} violet. A 2,5. 10^{-2} blau.

14\. XI. Blut in 2 Röhrchen, das eine a) sofort, das andere b) nach 4 Stunden zentrifugiert und abgehoben.
a) A 10^{-1} gelb. A 10^{-2} blau.
b) A 10^{-1} gelb. A 10^{-2} gelb. A 10^{-3} gelb. A 10^{-4} blau.

17\. XI. Blut wie vorher
a) A 10^{-1} gelb. A 10^{-2} blau.
b) A 10^{-1} gelb. A 10^{-2} gelb. A 10^{-3} gelb. A 10^{-4} violett. A 10^{-5} blau.

20\. XI. Blut wie vorher
a) A 10^{-1} gelb. A 10^{-2} blau.
b) A 10^{-1} bis A 10^{-6} gelb. A 10^{-7} blau.

21\. XI. Eine Probe desselben Serums wird im Wasserbade $^1/_2$ Stunde auf 53° erhitzt. A 10^{-1} gelb. A 10^{-2} blau.

0,5 ccm des erhitzten Serums wurden mit 0,5 ccm eines frischen normalen Serums gemischt und 2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurden in üblicher Weise die Proben aufgestellt: A 10^{-1} bis A 10^{-6} gelb. A 10^{-7} blau.

25\. I. Entblutung aus der Carotis.

5 ccm des Serums werden einem anderen Kaninchen injiziert. Am folgenden Tage wird diesem Tier eine Blutprobe entnommen, die nach 4 Stunden zentrifugiert wird. Diastasetitre 10^{-6}.

Kaninchen II. 31. X., 3. u. 4. XI. 1914 je 8 g Rohrzucker in etwa 50%iger Lösung in die Vene.

6\. XI. Blut, nach 4 Stunden zentrifugiert
A 10^{-1} violet. A 0,5. 10^{-1} blau.

16\. XI. Blut nach 4 Stunden zentrifugiert
A 10^{-1} gelb. 10^{-2} rot. 10^{-3} rot. 10^{-4} blau.

19\. XI. Blut nach 4 Stunden zentrifugiert
A 10^{-1} bis A 10^{-7} gelb. 10^{-8} blau.

Erklärung zu den Abbildungen.

Osazone.

1. Kaninchen XIX. 5. V. 14. Das Rohrzuckerserum hat auf Lävulose 48 Stunden gewirkt. Phenylglucosazon und stark lichtbrechende Kugeln (Gemisch von Galaktosazon und Lactosazon), s. S. 90.

2. Kaninchen XXXVIII. 28. III. 15. Rohrzuckerserum auf 10^{-3} verdünnt, hat 24 Stunden auf Rohrzucker gewirkt. Osazon aus heißem Wasser umgelöst (Galakto-Lactosazon).
3. Kaninchen XXXVIII. 28. III. 15. Rohrzuckerserum auf 10^{-2} verdünnt, hat 24 Stunden auf Rohrzucker gewirkt. Osazon aus heißem Wasser (Galakto-Lactosazon).
4. Kaninchen XXII. Am 1. X. 14 bis 8. X. 14. Rohrzuckerserum auf Lävulose. Osazon aus der Mutterlauge des Milchzuckers (Galakto-Lactosazon), s. S. 43.
5. Kaninchen XXV. 29. X. 14 bis 5. XI. 14. Rohrzuckerserum mit Rohrzucker. Lactosazon, s. S. 41.
6. Harn von Kaninchen III/IV. Osazon aus der Mutterlauge des Milchzuckers.

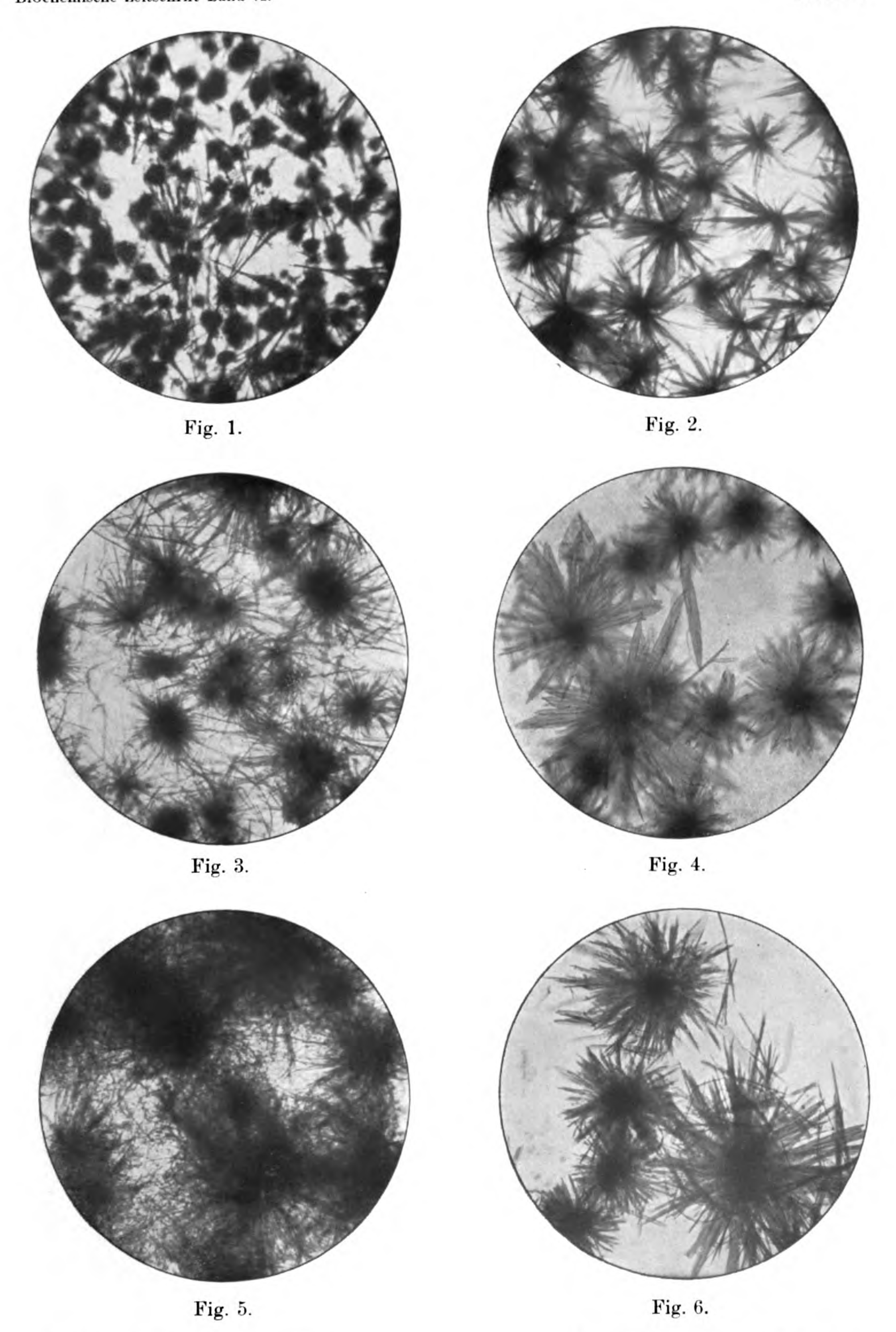


Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

Röhmann, Wirkungen des Blutserums.

Verlag von Julius Springer in Berlin.



Zur Bestimmung der Aminosäuren im Harne.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem med.-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 16. September 1915.)

Die Bestimmung der Aminosäuren, oder richtiger, des Aminosäurestickstoffes im Harne nach der Formolmethode, besitzt die Unannehmlichkeit, daß die Eigenfarbe des Harns den Umschlagspunkt etwas beeinträchtigt. Man kann den Harn nicht so scharf wie eine farblose Flüssigkeit titrieren. Diese Unannehmlichkeit läßt sich bequem in folgender Weise beseitigen, welches Verfahren auch bei der Bestimmung von Aminosäuren in anderen gefärbten Flüssigkeiten vorteilhaft sein wird.

Ebenso wie man durch Schütteln mit Blutkohle (Mercks Präparat) bei Gegenwart von 20% Alkohol den Harn vollkommen entfärben kann, ohne daß Zucker mit niedergerissen wird, ist dies auch für Aminosäuren der Fall. Ohne Gegenwart von Alkohol werden die Aminosäuren merkbar von der Blutkohle adsorbiert.

Folgende Versuche können über die Verhältnisse orientieren. Von einer ca. 5%igen Alaninlösung wurden verschiedene Mengen nach Verdünnung mit Wasser und ev. Zusatz von Alkohol direkt und nach Schütteln mit 1 g Blutkohle titriert.

Die Formalinlösung war zuerst mit 2 Volumen Wasser verdünnt und neutralisiert.

1. 2 ccm Alaninlösung + 8 ccm Wasser + 25 ccm Formollösung verbrauchten 5,45 ccm $^{n}/_{5}$ NaOH.

2. 4 ccm Alaninlösung + 16 ccm Wasser + 2 g Blutkohle. Nach Schütteln und Stehen während 10 Minuten filtriert. 10 ccm Filtrat + 25 ccm Formollösung verbrauchten 5,10 ccm $^{n}/_{5}$ NaOH.

3. 4 ccm Alaninlösung + 14 ccm Wasser + 2 ccm 95 % Alkohol + 1 g Blutkohle. Nach Schütteln und Stehen während 10 Minuten filtriert. 10 ccm Filtrat + 25 ccm Formollösung = 5,45 ccm $^n/_5$ NaOH.

Eine andere ca. 5 %ige Alaninlösung lieferte folgende Werte:

1. 10 ccm Alaninlösung + 10 ccm Wasser + 25 ccm Formollösung = 26,3 ccm $^n/_5$ NaOH.

2. 10 ccm Alaninlösung + 10 ccm Wasser + 1 g Kohle usw. 10 ccm Filtrat + 25 ccm Formol = 11,3 ccm $^n/_5$ NaOH. Für 20 ccm also = 22,6 ccm.

3. Wie 2., aber statt 10 ccm Wasser 2 ccm Alkohol und 8 ccm Wasser. Gefunden 13,3 ccm $^n/_{15}$ NaOH. Für 20 ccm also = 26,6 ccm.

4. 20 ccm Alaninlösung + 2 ccm Alkohol + 1 g Kohle. 10 ccm Filtrat = 23,7 ccm $^n/_5$ NaOH. Für 20 ccm Alaninlösung also 26,3 ccm.

Die Übereinstimmung ist, wie ersichtlich, gut. Bei der Bestimmung der Aminosäuren im Harn hat man das Ammoniak zu berücksichtigen.

Auffallenderweise hat es sich auch herausgestellt, daß das Ammoniak zwar aus wäßriger Lösung ohne Gegenwart von Alkohol zum Teil adsorbiert sind; setzt man dagegen, wie bei der Aminosäurebestimmung, 20 % Alkohol hinzu, so wird das Ammoniak nicht oder nur spurenweise von der Blutkohle adsorbiert, wie die folgenden Versuche zeigen. 1. Direkt gefunden 12,45 ccm $^n/_5$ NaOH, nach Schütteln mit Kohle 12,35 ccm. 2. Direkt gefunden 10,75 ccm, nach Schütteln mit Kohle 10,63 ccm. Ohne Zusatz von Alkohol wurden gefunden: 10,00 ccm gegen 10,70 ccm bei direkter Bestimmung.

Durch die Kohlenmethode werden folglich sowohl der Aminosäure-N wie der Ammoniak-N im Filtrate zusammen bestimmt. Wie gewöhnlich muß man deswegen in einem aliquoten Teil das Ammoniak separat bestimmen.

Nach dieser Modifikation gestaltet sich das Verfahren wie folgt:

In einem 100 ccm-Meßkolben oder Cylinder werden 50 ccm oder mehr Urin abgemessen. Hierzu setzt man 1 ccm Phenolphthalein nebst ca. 2 g festes Bariumchlorid. Nach Auflösung des Salzes setzt man von einer gesättigten Barytlösung bis zu

roter Farbe und darüber 5 ccm hinzu und ergänzt die Flüssigkeit auf 100 ccm. Nach dem Stehen während 15 Minuten fügt man etwa 2 g oder einen Teelöffel Blutkohle (Merck) zu und schüttelt einige Augenblicke kräftig durch, worauf man gleich durch ein trockenes Filter filtriert. Von dem Filtrate wird die eine Hälfte zur Aminosäurebestimmung verwendet, indem man dasselbe mit Lackmuspapier als Indicator neutralisiert. Man setzt zuerst von der Säurelösung ($^n/_e$ HCl) so viel hinzu, daß die rote Phenolphthaleinfärbung ins Farblose umschlägt[1]) und neutralisiert dann bis Lackmus neutral. Schließlich setzt man von einer frisch neutralisierten Formollösung (am besten verdünnt man die Formollösung zur Neutralisation mit 2 Vol. Wasser) ca. 30 bis 40 cmm (bzw. 100 cmm der verdünnten) hinzu und titriert mit $^n/_5$ Barytlösung bis zum dritten Stadium (stark rote Farbe) 1 ccm Barytlösung = 2,8 mg N.

In der anderen Hälfte des Filtrates wird das Ammoniak nach einer zuverlässigen Methode, z. B. nach Folin, bestimmt. Die Differenz der beiden Werte entspricht dem Aminosäure-N.

Die genuinen Eiweißkörper werden von der Kohle auch bei Gegenwart von Alkohol quantitativ adsorbiert. Wie sich die Albumosen aber verhalten, bleibt noch festzustellen. Untersuchungen hierüber sind in Vorbereitung.

---

[1]) Das Phenolphthalein wird schon größtenteils von der Blutkohle adsorbiert. Es empfiehlt sich deswegen, jetzt ca. 1 ccm Phenolphthaleinlösung zuzusetzen.

Untersuchungen über den Reststickstoff des Blutes.

I. Mitteilung.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem med.-chemischen Institut der Iniversität Lund.)

(Eingegangen am 16. September 1915.)

Die große Bedeutung, die den stickstoffhaltigen Extraktivstoffen des Blutes von mehreren Gesichtspunkten aus zukommt, macht das Studium ihres Verhaltens unter experimentellen Bedingungen und klinischen Verhältnissen wünschenswert. Solche Untersuchungen liegen auch bekanntlich in reichlicher Menge vor, leider sind sie aber bis zu der letzten Zeit wertlos, da sie auf ganz unzureichenden Methoden basiert sind. Erst nach dem Erscheinen der von Folin ausgearbeiteten Methodik ist diesem Mangel abgeholfen worden. Es ist deswegen auch Folin gelungen, in recht kurzer Zeit wichtige Tatsachen betreffs der Extraktivstoffe des Blutes feststellen zu können. Völlig einwandfrei ist die Folinsche Methodik jedoch nicht, da die Trennung der Extraktivstoffe von dem Eiweiß ihm nicht vollkommen gelungen ist, obwohl die dadurch bedingten Fehler lange nicht von der Bedeutung sind wie bei den früheren Methoden, wo sie 100—200 Prozent des totalen Reststickstoffes ausmachen.

Anderseits ist es klar, daß ein eingehendes Studium über den Rest-N nur durch Serienuntersuchungen in Frage kommen kann. Man muß die zeitlichen Verhältnisse beim Übergang und Ausscheidung desselben in und aus dem Blute genau verfolgen können, ebenso wie dies beim Blutzucker mit großem Vorteil geschieht. Hierzu kommen aber ausschließlich Mikromethoden in Betracht, die nicht mehr Blut fordern, als man aus der Ohrvene oder Fingerkuppe entnehmen kann.

Folins Methodik fordert aber mindestens 2 ccm Blut und setzt also eine Venenpunktur bei Menschen voraus, was man doch nicht beliebig oft ausführen kann. Und bei kleineren Versuchstieren, wie Kaninchen, ist selbst ein Verlust von 2 ccm Blut mehrere oder viele Male am Tage keineswegs gleichgültig.

Eine solche Methodik ist vom Verfasser ausgearbeitet und vor kurzem publiziert worden[1]), durch die man den Reststickstoff des Blutes unter Verwendung von nur 100 bis 130 mg Blut mit einer Genauigkeit von 0,002 bis 0,004 mg N, d. h. auf 100 g Blut umgerechnet 2—4 mg und bei Doppelanalysen ent-entsprechend weniger zu bestimmen vermag. Dies wurde dadurch erreicht, daß erstens eine entsprechend genaue Methode zur Stickstoffbestimmung ersonnen wurde, und zweitens, daß die Trennung des Extraktivstickstoffes vom Eiweiß einwandfrei gelang.

Nun besteht aber der Extraktivstickstoff aus recht heterogenen Substanzen von sehr verschiedener Bedeutung. Auf der einen Seite sind der Harnstoff und übrige Harnbestandteile des Blutes Endprodukte des Stoffwechsels, anderseits bilden Aminosäuren des Blutes die Nahrungsstoffe der Zellen. Es ist also notwendig, nicht allein den Reststickstoff, sondern auch diese zwei Hauptbestandteile desselben gesondert bestimmen zu können, um die Entscheidung darüber zu geben, inwieweit während des Versuches Änderungen des Rest-N-Gehaltes der einen oder anderen Hauptgruppe entsprechen, bzw. inwieweit beim konstanten N-Gehalt Verschiebungen der Hauptgruppen stattgefunden haben. Es wurde dem entsprechend auch eine Mikromethode zur Harnstoffbestimmung ausgearbeitet, die mit derselben Genauigkeit den Harnstoffgehalt des Blutes angibt. Die Differenz zwischen dem gefundenen totalen Reststickstoff weniger dem Harnstickstoff entspricht dem Aminosäurestickstoffgehalt des Blutes.

Mit Hilfe dieser Methoden sind von mir folgende Probleme des Eiweißstoffwechsels systematisch bearbeitet worden:

1. Der normale Gehalt und die physiologische Variationsbreite des Blutes an Aminosäuren und Harnstoff bei Menschen und den wichtigeren Haustieren.

---

[1]) Bang, Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile. Bergmanns Verlag, Wiesbaden 1915.

2. Die Verteilung dieser Stoffe zwischen Plasma und Blutkörperchen.

3. Das Verhalten der Extraktivstoffe bei Menschen und Tieren unter physiologischen Bedingungen wie Ernährung und Hunger.

4. Das Verhalten derselben nach einseitiger Einführung per os von Aminosäuren und Harnstoff.

5. Das Verhalten des Reststickstoffes unter pathologischen, experimentellen und klinischen Verhältnissen, wie Nephritis und Leberkrankheiten.

Die zwei ersten Fragen sollen in dieser Abhandlung erledigt werden, während die Beantwortung der übrigen den folgenden Abhandlungen vorbehalten werden sollen.

I.

Über den physiologischen Gehalt des Blutes an Reststickstoff sowie an Aminosäuren und Harnstoff am Menschen gibt die folgende Tabelle eine Übersicht. Die Werte sind überall auf 100 g Blut umgerechnet. Sie entsprechen dem Gehalt morgens vor dem Frühstück.

Aus den angeführten Werten geht hervor, daß der totale Reststickstoffgehalt des menschlichen Blutes zwischen 19 mg und 39 mg auf 100 g Blut liegt. Doch erscheint es für den letzten Wert etwas zweifelhaft, ob hier ein physiologischer Wert vorliegt, da der Fall ganz aus der Reihe fällt. Es erscheint nicht unwahrscheinlich, daß eine zufällige Verunreinigung mit Ammoniak vorliegt, obwohl hier, wie immer, peinlich genau gearbeitet wurde. Auch wurden, der Sicherheit halber, sämtliche Proben filtriert. Man darf deswegen vielleicht von diesem Werte absehen und die physiologische Variationsbreite auf 19 bis 36 mg schätzen. Der Mittelwert ist 25 mg und größere Differenzen als 5 mg von diesem Werte kommen nur selten vor (10 mal von 42). Gegen den obigen Wert kann angeführt werden, daß das Untersuchungsmaterial, abgesehen von den Versuchsnummern 1, 2, 9 bis 24, 36, 39 und 41 von der medizinischen Klinik herstammen (Nr. 9 bis 24 waren Studenten, 38, 40 und 42 waren Leute aus dem Armenhaus). Indessen wurden von der Klinik nur Personen mit indifferenten Krankheiten, wie Seborrhoe, Eczem, Gonorrhoe, Emphysem, Neurasthenie, Paralysis agitans, Rachitis (Nr. 3 und 4) sowie Rekonvaleszenten

Tabelle I.

Nr.	Namen	Alter	Totaler Rest-N	+ Ur-N	Amino-säure-N	Aminosäure-N / + Ur-N
1	Nabelstr.-Blut[1])		23, 23 } 23 mg	15, 11 } 13 mg	8, 12 } 10 mg	1/1,3
2	Nabelstr.-Blut[1])		21, 18 } 20 „	12, 10 } 11 „	6, 11 } 8 „	1/1.4
3	J. A.* . .	$1^3/_4$ Jahr	36	20	16	1/1.2
4	E. E. . .	2 Jahre	23	—	—	—
5	M. N.* . .	7 „	24	17	7	1/2,4
6	S. A.* . .	7 „	26	—	—	—
7	E. A. . .	12 „	32	11	21	2/1
8	M. B.* . .	13 „	24	14	10	1/1,4
9	G. E. . .	18 „	22	15	7	1/2
10	A. W. . .	19 „	34	15	19	1,2/1
11	H. C. . .	20 „	22	14	10	1/1,4
12	G. B. . .	20 „	23	—	—	—
13	A. W. . .	20 „	31	20	11	1/2
14	T. S. . .	20 „	28	12	16	1,3/1
15	E. S. . .	20 „	22	13	9	1/1,4
16	A. G. . .	21 „	34	15	19	1,2/1
17	E. T. . .	21 „	31	13	18	1,4/1
18	H. L.* . .	21 „	23	11	12	1/1
19	J. L. . .	21 „	23	15	8	1/2
20	B. L.* . .	22 „	25	19	6	1/3
21	P. B. . .	22 „	28	6	22	3,7/1
22	G. G. . .	23 „	22	8	14	1,8/1
23	E. H. . .	23 „	30	15	15	1/1
24	N. S. . .	23 „	28	20	8	1/2,2

[1]) Vom Kinde.

Tabelle I (Fortsetzung).

Nr.	Namen	Alter	Totaler Rest-N.	+ Ur-N.	Amino-säure-N	Aminosäure-N / + Ur-N
25	O. E. . .	24 Jahre	23	10	13	1,3/1
26	G. F. . .	24 "	22	13	9	1/1,3
27	O. H.* . .	24 "	19	7	12	1,7/1
28	K. J. . .	27 "	26	17	9	1/2
29	K. S. . .	28 "	35	14	21	1,5/1,0
30	H. S.* . .	33 "	20	8	12	1,5/1
31	H. P.* . .	37 "	23	8	15	2/1
32	A. S. . .	47 "	21	18	3	1/6
33	J. S.* . .	51 "	28	11	17	1,6/1
34	O. E. . .	51 "	25	—	—	—
35	E. A. . .	56 "	21	12	9	1/1,3
36	J. O. . .	60 "	24	14	10	1/1,4
37	M. A.* . .	66 "	23	15	8	1/2
38	A. W. . .	66 "	39	18	21	1,2/1
39	J. B. . .	68 "	36	17	19	1,1/1
40	O. L. . .	69 "	23	13	10	1/1,3
41	E. H.* . .	75 "	25	19	6	1/3
42	U. G. . .	82 "	29	15	14	1/1

Die mit * bezeichneten waren Frauen.

nach Ulcus ventriculi und Pneumonie benutzt. Der Harn war immer ohne Besonderheiten. Man ist folglich berechtigt, die sämtlichen obigen Werte als physiologische (mit Ausnahme von Nr. 38?) anzusehen. Es ist auch ersichtlich, daß die Werte der Studenten allein ziemlich genau dieselbe Variationsbreite (22 bis 34 mg) besitzen, wie das gesamte Material. Ebenfalls bleibt der Durchschnittswert etwa derselbe (26 mg gegen 25 mg).

Der Gehalt an Harnstoff-N bewegt sich zwischen 6 und 20 mg mit dem Mittelwert von 15 mg. Die höchsten Werte 18 bis 20 mg kommen so selten vor (6 mal von 42), daß man hier pathologische Verhältnisse vermuten könnte. Doch war der Harn überall albuminfrei, und, wie unten gezeigt werden soll, kann eine nicht unbeträchtliche Steigerung des Harnstoffgehaltes physiologisch vorkommen. Diese Versuchsindividuen waren Studenten, und Patienten mit Bronchopneumonie, Rachitis und Ulcus ventriculi. Man darf folglich auch für nüchterne Menschen einen Harnstoffwert von 20 mg als physiologisch anerkennen. Die Grenzwerte kommen nur selten vor, und in beinahe der Hälfte von sämtlichen Versuchen (18 bis 39 Versuchen) differieren die Werte nicht über 2 mg von dem Mittelwerte.

Der Aminosäuregehalt liegt zwischen 3 mg und 22 mg mit dem Mittelwert von 12 mg. Abweichungen von diesem Durchschnittswerte kommen, wie ersichtlich, selten vor[1]). Durchschnittlich verhält sich der Aminosäure-N zum Harnstoff-N wie 1 : 1,2, d. h. durchschnittlich besteht der Reststickstoff aus gleichen Mengen von Harnstoff-N und Aminosäure-N (in etwa 15 Versuchen von 39 gefunden). Zahlreiche Ausnahmen kommen jedoch vor, und zwar kann sowohl der Aminosäure-N wie der Harnstoff-N das Übergewicht zeigen (von 3,7 : 1 bis 1 : 6). Nicht unwichtig ist, konstatieren zu können, daß ein hoher Gehalt an totalem Reststickstoff keineswegs einen entsprechenden hohen Harnstoff bzw. Aminosäuregehalt zeigt. Im Versuch Nr. 29 ist der Reststickstoff 25 mg, der Harnstoff-N aber 19 mg; im Versuch Nr. 29 ist der Rest-N 35 mg und der Harnstoff-N nur 14 mg; in anderen Versuchen, wie Nr. 3, 36 u. a. entspricht ein hoher Reststickstoffgehalt einem entsprechenden Gehalt an Harnstoff. Umgekehrt kann man, wie im Versuch Nr. 21, bei einem relativ niedrigen Rest-N-Gehalt einen hohen Aminosäuregehalt finden (28 mg und 22 mg); in anderen aber bei ungefähr demselben Rest-N-Gehalt eine geringe Aminosäuremenge. Im Versuch Nr. 20 z. B. 25 mg und 6 mg. Hier-

[1]) Da der Aminosäurewert nur indirekt gefunden ist, und zwar durch die Differenz von zwei Werten, kann er nicht denselben Grad von Genauigkeit beanspruchen wie der Harnstoffwert. Die Versuchsfehler sind ja doppelt so groß. Im Durchschnitt genommen fallen diese Fehler jedoch fort.

aus kann man mit Bestimmtheit folgern, daß man nicht aus dem Rest-N-Gehalt allein auf den Gehalt an Harnstoff oder Aminosäuren schließen kann.

Wie anfangs bemerkt, sind Folins Untersuchungen die einzigen annähernd zuverlässigen Bestimmungen über den Reststickstoff und Harnstoff des Blutes. Es ist deshalb von Interesse, die obigen Befunde mit Folins Werten zu vergleichen. Bei Untersuchung von 16 Personen im Alter von 20 bis 45 Jahren fand Folin[1]) einen Gehalt an Rest-N von 22 bis 26 mg mit einem Harnstoffgehalt von 11 bis 13 mg. Durchschnittlich stimmen seine Werte also gut mit den obigen überein, dagegen ist die Variationsbreite Folins weit enger als oben gefunden. Folin sieht sogar einen Rest-N-Gehalt von über 30 mg als pathologisch an. Diese Auffassung Folins dürfte nach den obigen Befunden unhaltbar sein. Ebenfalls hat Folin in anderen Versuchsserien Werte von Rest-N bis 35 mg gefunden, ohne daß die Versuchsindividuen als pathologisch charakterisiert werden können. Es ist auch kaum möglich, allein aus 16 Versuchen die Grenzwerte festzustellen. Schließlich ist, wie anderswo erwiesen, Folins Methodik nicht einwandfrei.

Nach Folin soll weiter der Gehalt des Blutes an Rest-N von dem Alter des Individuums abhängig sein und zwar in der Weise, daß derselbe mit dem Alter steigen soll. Diese Annahme erscheint a priori recht plausibel wegen der eintretenden Arteriosklerose mit charakteristischen Nierenveränderungen. Sie findet jedoch in den obigen Untersuehungen keine Stütze. Im Gegenteil findet man hier bei den Greisen, wie z. B. in den Versuchen Nr. 40 und 42, oft niedrige Werte, und bei Kindern (z. B. im Versuch Nr. 3) hohe Werte für Rest-N und Harnstoff. Es ist denkbar, daß größere Untersuchungsserien bei Kindern und Greisen andere, besser mit Folin stimmende Ergebnisse liefern können. Solche sind bis jetzt überhaupt nicht ausgeführt worden. —

Nach dem oben Angeführten kann man also zusammenfassend sagen, daß der totale Rest-N-Gehalt des Menschen durchschnittlich 25 mg N auf 100 g Blut beträgt, doch liegen Werte von 19 mg bis 36 mg innerhalb der physiologischen Variationsbreite. Der Gehalt an Harnstoff-N ist durchschnitt-

---

[1]) Folin, Journ of biol. Chemistry 14, 33, 1913.

lich **15** mg mit Variationen von 6 mg bis 20 mg. Und der Gehalt an Aminosäure-N **12** mg (10 mg) mit Variationen von 3 mg bis 22 mg. Diese Variationen sind von dem Alter der Versuchsindividuen unabhängig. Diese Werte entsprechen nur die Verhältnisse bei nüchternen Menschen, wenn die Proben morgens vor dem Frühstück entnommen werden. Im Laufe des Tages können recht erhebliche Schwankungen davon eintreten, die unten besprochen werden sollen.

Die Untersuchungen über den Rest-N bei den Haustieren haben das in Tab. II folgende Ergebnis geliefert:

Von den untersuchten Tieren sind nur die Versuche an Rind und Kaninchen zahlreich genug, um physiologische Mittelwerte und Variationsbreite aufstellen zu können.

Außer den angeführten 8 Versuchsserien am Rind wurden in 9 anderen Versuchen der totale Reststickstoff allein festgestellt. Diese Werte waren: 1. 29 bis 28, 2. 26 bis 25, 3. 20 bis 19, 4. 20 bis 21, 5. 27 bis 26, 6. 15 bis 15, 7. 20 bis 22, 8. 27, 9. 31 mg. Sämtliche Versuche wurden mittels einer Makromethode, die in der erwähnten Monographie beschrieben worden ist, ausgeführt. Die 17 Versuchsserien am Rind zeigen eine Variationsbreite des Rest-Ns von 15 mg bis 31 mg mit einem Durchschnittswert von **24**. Für Harnstoff — wo nur 8 Versuche vorliegen — ist der Durchschnittswert **12** mg mit Variationen von 10 bis 16 mg. Die Aminosäurewerte liegen zwischen 4 und 19 mg, mit Durchschnitt **12** mg. Im allgemeinen kann man also folgern, daß die physiologischen Werte beim Rind mit denselben beim Menschen übereinstimmen, und zwar sowohl betreffs Variationsbreite wie Mittelwert.

Nach den wenigen Versuchen am Pferd, Schaf und Schwein zu urteilen, stimmen auch diese betreffs Rest-N, Harnstoff und Aminosäuren des Blutes mit Mensch und Rind überein.

Am Kaninchen liegen 21 Versuchsserien vor, aus denen hervorgeht, daß sämtliche Werte etwas und nicht ganz unbedeutend höher als beim Menschen und Rind liegen. Für den gesamten Rest-N ist der Mittelwert **33** mg mit einer Variationsbreite von 24 mg bis 47 mg. Werte über 40 mg kommen jedoch recht selten vor (4 mal von 21). Der Durchschnittswert für Harnstoff ist **16** mg mit Variationen von 8 mg bis 33 mg (die letzte Zahl kommt nur 1 mal vor. Möglicherweise war das Tier

Tabelle II.

	Totaler Rest-N	+ Ur-N	Amino-säure-N	Aminosäure-N / + Ur-N
Rind I . . .	20	16	4	$\frac{1}{4}$
	19	15	4	
" II . . .	17	10	7	$\frac{1}{2,5}$
	18	15	3	
" III . . .	19	9	10	$\frac{1}{1}$
	19	11	8	
" IV . . .	24	12	12	$\frac{1}{1}$
	24	15	9	
" V . . .	18	9	9	$\frac{1}{1,2}$
	18	—	—	
" VI . . .	28	12	16	$\frac{1,8}{1}$
	28	8	20	
" VII . . .	29	12	17	$\frac{1}{1,5}$
	31	15	16	$\frac{1}{1}$
" VIII . . .	29	10	19	$\frac{1}{2}$
	27	8	19	$\frac{1}{2}$
Pferd I	23	12	11	$\frac{1}{1}$
	23	12	11	
" II	20	9	11	$\frac{1}{1}$
	20	10	10	
Schaf I	26	17	9	$\frac{1}{2}$
	25	13	12	
Kaninchen I .	48	33	15	$\frac{1}{2}$
	46	—	—	
" II .	51	28	23	$\frac{1}{1,2}$
	46	26	20	
" III .	29	22	7	$\frac{1}{3}$
	26	—	—	
" IV .	30	9	21	$\frac{2}{1}$
	31	11	20	
" V .	33	14	19	$\frac{1,3}{1}$
	32	—	—	
" VI .	27	9	18	$\frac{1,9}{1}$
	29	12	17	
" VII .	39	12	27	$\frac{2,2}{1}$
	—	11	—	
" VIII .	24	12	12	$\frac{1}{1}$
	23	—	—	
" IX .	41	19	22	$\frac{1}{1}$
	36	—	—	
" X .	36	17	19	$\frac{1}{1}$
	33	—	—	

Tabelle II (Fortsetzung).

	Totaler Rest-N	+ Ur-N	Amino-säure-N	Aminosäure-N / + Ur-N
Kaninchen XI	26	10	16	1,6
	26	—	—	1
„ XII	27	15	12	1
	30	18	12	1,5
„ XIII	44	25	19	1
	43	17	19	1,3
„ XIV	26	10	16	1,6
	—	10	—	1
„ XV	26	10	16	1,6
	—	9	—	1
„ XVI	27	15	12	1
	30	15	15	1
„ XVII	42	15	17	1,3
	40	12	18	1
„ XVIII	30	22	8	1
	29	19	10	2
„ XIX	25	8	17	1,8
	26	11	15	1
„ XX	32	14	18	1,3
	34	15	19	1
„ XXI	27	8	19	2,2
	25	7	18	1
Schwein I . . .	27	14	13	1
	24	14	10	1,1
„ II . . .	19	9	10	1
	21	11	10	1
Hund I	34	25	9	1
	35	27	8	3,5
„ II	38	20	18	1
	34	17	17	1,1
Katze I	24	—	—	—
	25	—	—	—
„ II	30	20	10	1
	33	—	—	2
„ III	39	17	21	1,3
	40	—	—	1
„ IV	41	19	22	1,2
	43	19	24	1
„ V	30	17	13	1
	33	19	14	1,3

nicht normal (oder liegt ein zufälliger Versuchsfehler vor?). Werte über 20 mg kommen hier wie beim Menschen selten vor (5 mal von 21). Im allgemeinen kann man also folgern, daß die Werte für Harnstoff bei Kaninchen nur unwesentlich höher

als beim Menschen und Rind liegen. Der Unterschied des Rest-Ns ist folglich durch den verschiedenen Gehalt an Aminosäuren bedingt, der durchschnittlich 17 mg gegen 10 bis 12 mg beim Menschen und Rind beträgt. Der Aminosäuregehalt ist weiter ein recht konstanter. Nur 3 mal kommen 20 mg und darüber vor und 2 mal weniger als 12 mg. Das Kaninchen besitzt also im Blute einen größeren Vorrat von N-haltiger Nahrung als die größeren Tiere, was vielleicht mit dem lebhafteren Stoffwechsel zusammenhängt. Hiermit stimmt gut überein, daß bei der Katze — nach den wenigen Versuchen zu beurteilen — die Werte für Aminosäuren ebenfalls höher liegen als beim Menschen und Rind. Dagegen stimmen sie mit den Werten des Kaninchens überein. Bei der Katze und dem Hunde liegen weiter die Werte für Harnstoff höher als bei dem Pflanzenfresser und Omnivoren. Es scheint recht wahrscheinlich, daß dies mit der eiweißreichen Nahrung zusammenhängt.

II.

Über die Verteilung des Reststickstoffes zwischen Blutkörperchen und Plasma ist nur wenig bekannt. Zwar sind mit unzureichender Methodik zahlreiche Bestimmungen an Serum ausgeführt. Bei Blutkörperchen hat nur Costantino[1]) den qualitativen Nachweis von Harnstoff und Aminosäuren geliefert.

Daß der Harnstoff als eine leicht durch die Lipoidmembran permeable Substanz sich gleichmäßig zwischen Plasma und Körperchen verteilt, ist a priori wahrscheinlich. Dagegen dürften die Aminosäuren als impermeabel sich ausschließlich oder vorzugsweise im Serum befinden. Allerdings hat man für den ebenfalls impermeablen Traubenzucker bei einigen Tieren eine gleichmäßige Verteilung zwischen Plasma und Körperchen, bei anderen ein ausschließliches Vorkommen im Plasma nachgewiesen. Die Untersuchung über die Verhältnisse der Aminosäuren dürfte demgemäß ein besonderes Interesse beanspruchen können. Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß ein Teil des Blutes zur Koagulation hingestellt wurde. Das Serum wurde wie gewöhnlich in Papierstückchen eingesaugt, und auf totalem Rest-N sowie Harnstoff verarbeitet. Ein anderer Teil desselben nicht koagulierten Blutes wurde direkt

[1]) Costantino, diese Zeitschr. 55, 402, 1913.

Tabelle III.

	Rest-N	+ Ur-N	Aminosäure-N
Mensch I: Vollblut	35	14	21
Serum	27	14	13
„	—	13	—
Mensch II: Vollblut	23	10	13
Serum	21	10	11
„	20	10	10
Mensch III: Vollblut	22	15	7
Serum	25	17	8
„	24	16	8
Mensch IV: Vollblut	28	20	8
Serum	29	22	7
„	28	19	8
Rind I: Vollblut	19	10	9
„	19	9	10
Serum	12	9	3
„	11	5	6
Rind II: Vollblut	18	15	3
„	18	10	8
Serum	16	10	6
„	17	14	3
Pferd I: Vollblut	23	12	11
„	23	12	11
Serum	18	11	7
„	17	9	8
Pferd II: Vollblut	20	9	11
„	20	10	10
Serum	12	5	7
„	13	6	7
Schwein I: Vollblut	19	9	10
„	21	11	10
Serum	10	10	—
„	7	7	—
Schwein II: Vollblut	27	14	13
„	24	14	10
Serum	25	13	12
Schaf: Vollblut	25	13	12
„	26	17	9
Serum	20	16	4
„	19	12	7
Kaninchen I: Vollblut	29	22	7
„	26	—	—
Serum	17	16	1
„	17	12	5
Kaninchen II: Vollblut	48	33	15
„	46	—	—
Serum	40	30	11
„	43	30	13
Hund I: Vollblut	34	25	9
„	35	27	8
Serum	32	33	—
„	25	31	—

Tabelle III (Fortsetzung).

	Rest-N	$\overset{+}{\mathrm{U}}$r-N	Aminosäure-N
Hund II: Vollblut	34	17	17
"	38	20	18
Serum	34	26	8
"	29	20	9
Katze I: Vollblut	30	20	10
"	33	—	—
Serum	28	15	13
"	30	16	14
Katze II: Vollblut	34	17	17
"	35	—	—
Serum	33	16	17
"	29	—	—
Katze III: Vollblut	33	19	14
"	30	17	13
Serum	34	13	21
"	40	13	27
Katze IV: Vollblut	43	19	24
"	39	19	20
Serum	46	18	28
"	—	17	—

nach den Mikromethoden auf totalem Rest-N und Harnstoff untersucht. Die Ergebnisse sind in der Tabelle III zusammengestellt.

Aus den Versuchen geht hervor, daß in der Mehrzahl der Versuche (11 von 19 Versuchen) und zwar immer beim Menschen das Plasma und die Blutkörperchen denselben Reststickstoffgehalt besitzen, in den übrigen Versuchen enthalten die Körperchen mehr, zuweilen bedeutend mehr Reststickstoff wie Plasma (eine Ausnahme bildet die Katze IV, wo das Serum mehr Rest-N enthält; der Unterschied ist jedoch relativ gering und Doppelanalysen fehlen, man darf deswegen diesem Versuch keine entscheidende Bedeutung zumessen).

Von den einzelnen Bestandteilen des Rest-Ns ist der Harnstoff in nicht weniger als 16 von 19 Versuchen gleichmäßig zwischen Plasma und Körperchen verteilt, wie man nach den osmotischen Verhältnissen des Harnstoffes erwarten könnte. In den übrigen 3 Versuchen enthalten die Körperchen etwas mehr Harnstoff als Plasma. (Beim Pferd II 9 bis 10 mg gegen 5 bis 6 mg, bei Katze III 17 bis 20 mg gegen 13 bis 13 mg und beim Hund I 31 bis 32 mg gegen 25 bis 27 mg.) Der Mehrbetrag ist, abgesehen von Pferd II, doch relativ unbedeutend. Man ist

deshalb berechtigt zu folgern, daß im allgemeinen der Harnstoffgehalt der Körperchen mit dem des Serums übereinstimmt. Es scheint demzufolge sehr wahrscheinlich, anzunehmen, daß dies mit den Zellen überhaupt der Fall ist. Die Bestimmung des Harnstoffes des Blutes dürfte also zugleich den Gehalt der Organzellen angeben. Von den Aminosäuren besitzen in nicht weniger als 7 Versuchen die Körperchen mehr und bisweilen bedeutend mehr als das Plasma. In 5 Versuchen (Rind I und II, Schwein I, Kaninchen I und Hund I) enthält das Serum keine oder nur ganz geringe Spuren von Aminosäuren. In anderen 10 Versuchen, davon sämtlichen beim Menschen, ist der Gehalt derselbe bei Körperchen und Plasma, und nur in 2 Fällen enthält das Serum mehr Aminosäuren wie Blutkörperchen.

Die ungleichmäßige Verteilung der Aminosäuren erinnert an das nämliche Verhalten des Traubenzuckers, indem das Plasma gewöhnlich reicher an Zucker wie die Körperchen ist. Bei einigen Tieren ist der Traubenzucker gleichmäßig zwischen Körperchen und Plasma verteilt, bei anderen nicht. Nach Masing dürften die Körperchen, die denselben Gehalt an Zucker besitzen wie Plasma, für den Zucker permeabel sein. Osmotische Versuche mit Menschenblutkörperchen in isotonischer Glykokoll-Lösung zeigten jedoch keine Hämolyse, dagegen aber eine komplette Agglutination. Es liegt daher absolut kein Grund vor, anzunehmen, daß andere Blutsorten permeabel sein sollen.

Wenn also die Blutkörperchen die nämliche oder auch eine größere Quantität Aminosäuren wie Plasma enthalten, hat man eher an zwei andere Möglichkeiten zu denken: 1. Die Körperchen haben aktiv mittels einer Zelltätigkeit die Aminosäuren aufgenommen, oder 2. die Aminosäuren der Blutkörperchen kommen nicht vom Serum und entsprechen also keinem vom Darmkanal aufgenommenen Nahrungsstoffe, sondern sind Produkte der intracellulären proteolytischen Enzymwirkung. Die letzte Annahme scheint die wahrscheinlichste, da bekanntlich eben die Blutkörperchen solche Enzyme enthalten. Ebenfalls wäre es auffallend, wenn die biologisch niedrig stehenden Körperchen einen so bedeutenden Teil der Aminosäuren aufnehmen und verwerten sollten.

Werden aber die Aminosäuren selbst in den Körperchen

gebildet, bleibt die Möglichkeit zu berücksichtigen, daß vielleicht ein Teil der Serumaminosäuren von den Blutkörperchen und nicht von der Nahrung herstammen. Dagegen kann man erwidern, daß die Exosmose ebenso unwahrscheinlich sein muß wie die Endosmose der impermeablen Aminosäuren. Auf der anderen Seite wäre eher denkbar, daß die enzymatisch in Überschuß gebildeten Aminosäuren aus den Körperchen aktiv ausgeschieden werden könnten. Es ist demzufolge nicht ausgeschlossen, daß ein Teil der im Serum befindlichen Aminosäuren von den Formelementen herstammen und nicht allein den Formelementen des Blutes, sondern auch denen der Gewebe. Diese Möglichkeit findet entschieden eine Stütze in der Beobachtung, daß der Aminosäuregehalt des Blutes während des Hungers unverändert bleibt (vgl. folgende Abhandlung). Diese Aminosäuren können wohl kaum Nahrungsaminosäuren sein.

Mit dieser Möglichkeit vor Augen kann man den Nachweis der Aminosäuren im Blute bzw. Blutserum keiner entschiedenen Bedeutung für die Frage zumessen, inwieweit die im Darmkanal bei der Eiweißverdauung gebildeten Aminosäuren später im Blute — jedenfalls des großen Kreislaufes — vorkommen. Tatsächlich findet man sogar nach Fütterung übergroßer Eiweißmengen absolut keine Steigerung des Aminosäuregehaltes im Blut (vgl. Abt. II).

Die Frage nach der Genese der Aminosäuren im Blute ist also gar nicht als gelöst anzusehen, wie man jetzt gewöhnlich annimmt. Im Gegenteil dürften die angeführten Untersuchungen zu fortgesetzter Bearbeitung der Frage ermuntern, wobei man auch das mehrmals gefundene Nichtvorkommen derselben im Serum zu berücksichtigen hat.

Untersuchungen über den Reststickstoff des Blutes.

II. Mitteilung.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem med.-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 16. September 1915.)

Mit 1 Figur im Text.

Nachdem in der vorgehenden Abhandlung der physiologische Gehalt des Blutes an Aminosäuren und Harnstoff festgelegt worden ist, wird dieser Mitteilung vorbehalten, den Nachweis zu bringen, wie sich der Reststickstoff während des Hungers und nach Nahrungsaufnahme verhält. Die Hungerversuche sind ausschließlich an Kaninchen ausgeführt worden, während die Verhältnisse nach Nahrungsaufnahme an Menschen, Kaninchen und Hunden studiert worden sind.

I.

Die Versuche über die Wirkung des Hungers haben das Ergebnis geliefert wie Tabelle I zeigt.

Tabelle I.

Nr.		Totaler Rest-N.	Harnstoff-N.	Amino-säure-N.
1	Wohlernährt	27	9	18
1	"	29	12	17
1	Nach 5 Tagen Hunger	46	40	6
2	Wohlernährt	30	9	21
2	"	31	11	20
2	Nach 5 Tagen Hunger	40	20	20
3	Wohlernährt	48	33	15
3	"	46	—	—
3	Nach 4 Tagen Hunger	60	47	13
4	Wohlernährt	29	22	7
4	Nach 6 Tagen Hunger	73	65	8
5	Wohlernährt	51	28	23
5	"	46	26	20
5	Nach 6 Tagen Hunger	165	142	23

Die Versuche zeigen ganz übereinstimmend, daß der Reststickstoffgehalt während des Hungers stark ansteigt und daß diese Steigerung ausschließlich den Harnstoff betrifft, während der Aminosäuregehalt unverändert bleibt. Das Ergebnis ist etwas überraschend, da bekanntlich die Eiweißkonsumtion während des Hungers stark gegen die Norm absinkt. Demzufolge hätte man eher einen verminderten Harnstoffgehalt erwartet. Nicht weniger überraschend ist der konstante Aminosäuregehalt des Blutes, wenn der Zufluß vom Darm aufgehört hat. Man muß sich deswegen vorstellen, daß entweder eine recht konstante Neubildung von Aminosäuren aus Organeiweiß und Ausscheidung zum Blut vorkommt oder auch daß der vorgefundene Aminosäuregehalt tatsächlich vorzugsweise den Aminosäuren der Blutkörperchen entspricht [1]).

Gegen die obigen Versuche kann man aber einwenden, daß für normale Tiere kein konstanter Aminosäure- bzw. Harnstoffgehalt erwiesen worden ist und daß vielleicht die Differenzen jedenfalls zum Teil physiologischen Variationen ent-

Tabelle II.

	Versuch Nr. 1.			Versuch Nr. 2.			
Versuchstag	Rest-N	+ Ur-N	Amino-säure-N	Rest-N	+ Ur-N	Amino-säure-N	Anmerkungen
1.	49 [2])	27	22	28 [2])	22	6	Kohlblätter morgens u. abends.
2.	47	—	—	38	20	18	
3.	42	21	21	24	15	9	
4.	51	32	19	34	29	5	
5.	51	—	—	32	22	10	
6.	54	33	21	35	16	19	
7.	62	43	19	38	18	20	Fütterung nur morgens, also d. Hälfte Tagesration.
8.	67	43	24	41	24	17	
9.	66	43	23	36	—	—	
10.	71	—	—	51	40	11	
11.	109	77	32	65	50	15	Absolut. Hunger.
12.	137	106	32	73	65	8	
13.	165	142	23	63	42	21	
14.	169	—	—				
15.	86	58	26		†		Das erste Tier äußerst mitgenommen. Bekam reichlich Futter.
16.	52	35	17				
17.	89	68	21				
18.	25	22	3				
19.	28	10	18				

[1]) Untersuchungen von Serum und Blutkörperchen während des Hungers sind nicht ausgeführt worden.

[2]) Ursprünglicher Rest-N-Gehalt am Anfang des Versuches.

sprechen. Diese Forderung erhärten die vorstehenden Versuche, die außerdem, dank den fortgesetzten täglichen Bestimmungen während des Hungers die stetige Steigerung des Harnstoffgehaltes demonstrieren.

In der Vorperiode zeigen die Versuchstiere einige Schwankungen des Harnstoffwertes, der dessenungeachtet durchschnittlich unverändert bleibt. Noch regelmäßiger ist im Versuche Nr. 1 der Aminosäuregehalt. Nach Beschränkung der Nahrung steigt schon der Harnstoffgehalt langsam und stetig in die Höhe. In der folgenden absoluten Hungerperiode ist die Steigerung noch größer und der Harnstoffgehalt erreicht hier eine solche Höhe, die nur bei schweren Nephriten vorkommt. Trotzdem war der Harn vollkommen eiweißfrei[1]). Um so bemerkenswerter ist das rasche Sinken des Harnstoffgehaltes nach der folgenden Fütterung. Hier findet man jedoch wieder am dritten Tag eine vorübergehende Steigerung trotz der Nahrungsaufnahme, die wahrscheinlich damit zusammenhängt, daß die Gewebe ihren Harnstoff wieder zum Blute abgeben. Dies Verhältnis wurde wiederum konstatiert. Es verdient daran erinnert zu werden, daß nach intravasculärer Zufuhr von Zucker ähnliche Schwankungen konstant vorkommen. Zur besseren Übersicht sind die Ergebnisse des ersten Versuches in der Kurve I graphisch wieder-

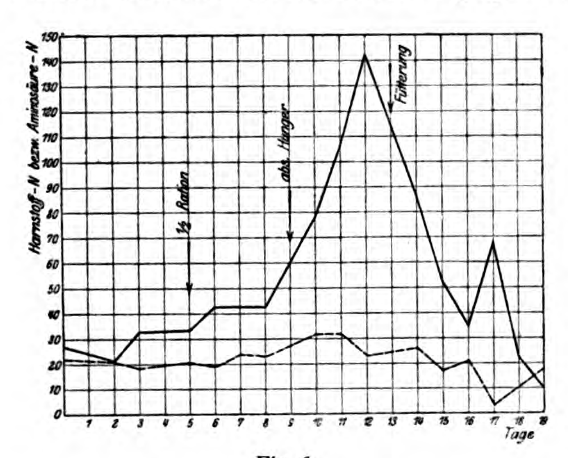


Fig. 1.

Hungerversuch Nr. 1. ——— Harnstoff-N. - - - - - Aminosäure-N.

[1]) Eine so große Steigerung wie im Versuche Nr. 1 ist sonst bei Hungerversuchen nicht beobachtet worden.

gegeben. Die Versuche dürften ganz exakt die Harnstoffsteigerung des Blutes bei Hunger beweisen, und es bleibt also übrig, die Frage nach ihren Ursachen zu beantworten. Zur Beurteilung dieser Frage hat man an die bei Hunger stark verminderte Harnabsonderung zu denken. Der Harnstoff fordert für seine Ausscheidung Flüssigkeit. Wenn wenig Flüssigkeit zur Verfügung steht, wird zwar eine konzentriertere Harnstofflösung ausgeschieden — wie der Morgenharn des Menschen, wo oft nach Zusatz von Salpetersäure salpetersaurer Harnstoff in reichlicher Menge direkt auskrystallisiert —, es wäre aber denkbar, daß eben deswegen eine Harnstoffretention des Blutes einträte, jedenfalls wenn die Harnkonzentration zu einer gewissen Höhe steigt. Und daß tatsächlich der Wassergehalt des Blutes bei Hunger vermindert wird, ist im hiesigen Institut experimentell festgestellt worden. Die Ergebnisse sollen demnächst mitgeteilt werden. Um die Bedeutung des Wassers studieren zu können, wurden in den folgenden Versuchen jeden Hungertag 100 ccm Wasser mit der Magensonde eingeführt.

Tabelle III.

	Versuch Nr. 1.			Versuch Nr. 2.			
Versuchstag	Rest-N	+ Ur-N	Aminosäure-N	Rest-N	+ Ur-N	Aminosäure-N	Anmerkungen
1.	53[1]	22	31	50[1]	15	35	
2.	47	16	30	39	14	25	
3.	30	20	10	42	13	29	
4.	38	20	18	—	18	—	
5.	—	25	—	35	—	—	
6.	53	23	30	40	24	16	
7.	40	23	17	32	20	12	Fütterung täglich.
8.	50	19	31	42	16	26	
9.	38	14	24				9. bis 15. Tag wieder Hunger ohne Zufuhr von Wasser.
15. bis	abgebrochen			88	57	31	

Wie ersichtlich, bleibt bei Zufuhr von Wasser jede Steigerung des Harnstoffes im Blute aus, während in Versuch Nr. 2 nach Hunger ohne Wasser eine nicht unbedeutende Steigerung eintritt. In einem dritten Versuch stieg der Rest-N nach Hunger ohne Wasser während 5 Tagen von 28 mg auf 40 mg und der Harnstoff-N von 10 mg auf 20 mg. Das Kaninchen bekam

[1]) Ursprünglicher Rest-N-Gehalt.

dann den 6. Versuchstag 100 ccm H_2O pro Sonde ohne Fütterung. Den nächsten Tag waren die Ziffern 19 mg Rest-N und 9 mg Harnstoff-N. 160 ccm Harn wurden ausgeschieden.

Nach den angeführten Versuchen ist also die Steigerung des Harnstoffes im Blute von dem Wassermangel abhängig. Ein genügender Wasservorrat ist notwendig, wenn die Nieren eine Harnstoffretention verhindern sollen. Es ist in diesem Zusammenhang interessant, konstatieren zu können, daß der Wassergehalt des Blutes im Vergleich zur Größe der Retention unbedeutend abnimmt. Es kommt also wahrscheinlich in erster Linie auf den Wassergehalt der Gewebe an. Diese Tatsache ist von mehreren Gesichtspunkten aus von Interesse. Während des Hungers ist bekanntlich der Umsatz von Eiweiß vermindert gegen Norm. Es wäre denkbar, daß diese Verminderung mit der Harnstoffsteigerung des Blutes in Konnex stehen könne. Ein Anhäufen der Umbildungsprodukte wirkt bekanntlich auf die Fermentation hemmend — und die Harnstoffbildung ist bekanntlich von enzymatischen Vorgängen bedingt. Eine Stütze für diese Auffassung ist die — auch bekannte — Tatsache, daß der Eiweißumsatz bei Hunger durch Zufuhr von Wasser ansteigt. Und die Wasserzufuhr verhindert bzw. hebt ja die Harnstoffsteigerung auf.

Zweitens zeigen die Versuche, daß der Harnstoffgehalt des Blutes bei demselben Individuum keine konstante Größe darstellen kann. Bekanntlich wird bald ein konzentrierter, bald ein verdünnter Harn, je nach der Wasseraufnahme und dem Wasserverlust, durch die Perspiratio insensibilis geliefert. Man darf dann folgern, daß wie der Harnstoffgehalt des Harns ebenfalls der Gehalt des Blutes variieren muß.

Weiter ist die durch Wassermangel bedingte Harnstoffsteigerung des Blutes, die, wie die Versuche zeigen, bisweilen eine beträchtliche Höhe erreichen kann, für die Lehre der Nierenkrankheiten wichtig. Bei Nephritis findet man bald Harnstoffretention, bald vermißt man sie ganz. Bei den akuten Nephriten mit herabgesetzter Harnabsonderung kommt Retention vor. Bei interstitiellen mit Polyurie vermißt man sie — soweit die Erfahrung lehrt — ganz oder größtenteils. Es ist dann sehr fraglich, inwieweit nicht der Wasserhaushalt auch bei den Nephriten für das Zustandekommen

der Harnstoffretention eine wesentliche Rolle spielt. Es wäre auch möglich, daß die Beseitigung der Retention bei Nephritis physiologisch durch Wasserzufuhr bisweilen mehr oder weniger ausgiebig erreicht werden könnte, selbst wenn die Rücksicht aufs Herz oft eine Kontraindikation darstellen muß. Hierüber wird unten die Rede sein.

Schließlich dürfte die, wenn ich sagen darf, physiologische Harnstoffretention in Betracht des Konnexes zwischen der Retention, Blutdrucksteigerung und urämischen Symptomen von Interesse sein. Da man wohl annehmen kann, daß mit dem Harnstoff auch die übrigen Harnbestandteile zurückgehalten werden, könnten möglicherweise die Hungerversuche zur Entscheidung dieser Fragen beitragen.

II.

Um die Frage nach einer eventuellen Einwirkung der Nahrung auf den Reststickstoff des Blutes unzweideutig zu entscheiden, wurden zuerst Versuche mit Aufnahme von exorbitanten Eiweißmengen angestellt. Diese Versuche wurden an Menschen, Hunden und zum Teil an Kaninchen angestellt. Da aber die Kaninchen, die animalisches Eiweiß bekamen, sich verschieden verhalten, werden diese unten für sich besprochen. Die Ergebnisse der Hundeversuche sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle IV.

	Nr. 1. Foxterrier, ca. 7 kg.			Nr. 2. Dachs, 8 kg.		
	Rest-N	+ Ur-N	Amino-säure-N	Rest-N	+ Ur-N	Amino-säure-N
Präformiert . .	37	18	19	28	13	15
10h 20' bis 10h 30'	450 g Fleischbrei gefressen			9h 40' bis 9h 50' 500 g Fleischbrei gefressen		
3 Stdn. später	46	47	0	45	32	13
6 „ „	51	41	10	59	41	18
9 „ „	37	25	12	57	40	17
24 „ „	27	16	11	21	8	13

3 Stunden nach Aufnahme von 135 bis 150 g Eiweiß oder ca. 20 g pro kg findet man also eine markante Steigerung des Rest-Ns im Blute, die nach 6 bis 9 Stunden wieder zu sinken anfängt. Nach 24 Stunden sind die ursprünglichen Werte wieder

erreicht oder der Rest-N noch tiefer gesunken. Diese Steigerung entspricht ausschließlich der Steigerung des Harnstoffes, während der Aminosäuregehalt unverändert bleibt oder absinkt. Eine etwa 150 g Aminosäuren entsprechende Eiweißmenge wird folglich in der Leber so vollständig in Harnstoff umgebildet, daß eine Vermehrung der Aminosäuren im Blute nicht nachweisbar ist. Hiermit stimmt gut überein, daß im Harn keine alimentäre Aminosäureausscheidung nach Eiweißaufnahme nachgewiesen worden ist, während, wie unten erwiesen werden soll, schon eine geringe Steigerung des Aminosäuregehalts des Blutes eine solche Ausscheidung bedingt.

Sonderbar ist ferner das Verschwinden der Aminosäurefraktion im ersten Versuche, 3 Stunden nach der Einverleibung des Fleisches. Daß ein Analysenfehler nicht dafür verantwortlich gemacht werden kann, zeigen die folgenden Versuche an Menschen, wo das nämliche Verhältnis wiederholt konstatiert worden ist (siehe unten).

Interessant ist auch, die bedeutende, 100 bis $200^0/_0$ betragende Steigerung des Harnstoffgehaltes des Blutes nachzuweisen; eine Steigerung, die wohl mit der nephritischen Retention verglichen werden kann. Wir haben hiermit eine alimentäre Hypercarbamidämie bei Hunden nachgewiesen.

Die Versuche an Menschen haben ein mit den Hundeversuchen völlig übereinstimmendes Ergebnis geliefert.

Tabelle V.

	H. C., 20 Jahre.			G. B., 20 Jahre.		
	Rest-N	$\overset{+}{\mathrm{U}}$r-N	Amino-säure-N	Rest-N	$\overset{+}{\mathrm{U}}$r-N	Amino-säure-N
Präformiert . .	22	15	7	23	verloren	—
$10^h\ 30'$	900 g Fleisch als Karbonaden gegessen			9 a. m.	750 g Fleischkarbonaden	
3 Stdn. später	26	16	10	35	35	0
6 " "	36	36	0	39	27	12
9 " "	27	28	0	24	19	5
24 " "	—	—	—	25	18	7

Die Versuchspersonen waren Studenten.

Die Einnahme einer sehr reichlichen Fleischmenge führt folglich auch bei Menschen zu einer deutlichen Steigerung des Reststickstoffes im Blute, die ausschließlich einer Hypercar-

bamidämie entspricht, die einige Stunden dauert, um wieder zur Norm abzusinken. Dagegen vermißt man auch hier vollkommen eine Steigerung des Aminosäuregehaltes, im Gegenteil der Gehalt sinkt stark ab. Die Steigerung des Harnstoffes im Blute fällt zeitlich mit der Periode der größten Harnstoffausscheidung im Harn zusammen. Und ebenso wie die Harnstoffausscheidung nach Eiweißaufnahme nach etwa 9 Stunden vorüber ist, ist auch in dieser Zeit die Hypercarbamidämie des Blutes abgeklungen. Es fragt sich demnächst, inwieweit diese Hypercarbamidämie auch bei der gewöhnlichen Eiweißaufnahme bei gemischter Kost stattfindet. Solche Versuche sind bei mehreren Studenten ausgeführt worden.

Zuerst wurden morgens vor dem Frühstück der Rest-N und Harnstoff-N des Blutes bestimmt. Um 10 bis 11^h a. m. folgte das Frühstück: Brot, Butter, ein Ei, Brei oder etwas Fleisch, Milch oder Kaffee. 3 Stunden später folgten die zweiten Blutproben. Um 3 bis 4^h p. m. Mittagsessen: Suppe, Fleisch oder Fisch mit Kartoffeln. Bisweilen bekamen die Versuchs-

Tabelle VI.

Versuchs-Nr.	Namen und Alter		Rest-N	$\overset{+}{\text{Ur}}$-N	Amino-säure-N
1.	P. B., 20 Jahre.	1.	28	6	22
		2.	29	14	15
		3.	21	12	9
2.	Aa. W., 20 „	1.	31	20	11
		2.	34	14	10
		3.	30	16	14
3.	E. T., 21 „	1.	31	13	18
		2.	33	13	20
		3.	33	15	18
4.	G. T., 24 „	1.	22	13	9
		2.	22	12	10
		3.	20	10	10
5.	G. G., 23 „	1.	22	8	14
		2.	21	10	11
		3.	24	8	16
6.	A. W., 19 „	1.	34	15	19
		2.	29	22	7
		3.	30	20	10
7.	A. G., 21 „	1.	33	14	19
		2.	33	16	17
		3.	34	19	15
8.	T. S., 20 „	1.	28	12	16
		2.	26	13	13
		3.	34	16	18

individuen statt Suppe ein Kompott oder Pudding. 3 Stunden nach dem Mittagsessen kamen die dritten Blutproben.

In den 6 von 8 Versuchsserien findet, wie ersichtlich, absolut keine Steigerung statt. Nur in den Versuchen Nr. 6 und 7 ist eine unbedeutende Steigerung des Harnstoffes zu finden. Diese (15 bis 22 mg, 14 bis 19 mg) ist aber derartig unbedeutend, daß man unmöglich eine größere Bedeutung annehmen kann; die Differenzen liegen schon recht nahe den Fehlergrenzen.

Die Versuche beweisen also unzweideutig, daß bei gewöhnlicher Ernährung keine nachweisbare Steigerung des Harnstoffes oder der Aminosäuren im Blute vorkommt. Der Spiegel des Reststickstoffes wird unter normalen Verhältnissen während des Tages von der Nahrung nicht beeinflußt. Die Ausscheidung der Nieren hält also mit der Harnstoffbildung der Leber Schritt. Nur bei überreicher Harnstoffbildung bleibt die Ausscheidung zurück und der Harnstoff des Blutes steigt an. Dies braucht doch keineswegs eine relative Insuffizienz der Nieren zu bedeuten. Wahrscheinlicher ist, daß wie im Hunger die zur Verfügung stehende Wassermenge eine ungenügende ist, ein konzentrierter Harn wird ausgeschieden, was der fortgesetzten Ausscheidung entgegenwirkt.

Es bleibt jedoch noch die Möglichkeit zu berücksichtigen, daß die Gewebe Depots für eine vorübergehende Aufnahme des gebildeten Harnstoffes bilden können, die erst nach und nach den überschüssigen Harnstoff zum Blut und Harn abgeben. Die Permeabilität des Harnstoffes durch die Lipoidmembran der Zellen macht diese Vorstellung sehr plausibel, die auch direkt durch Einführung des Harnstoffes ins Blut bewiesen wurde (siehe folgende Abhandlung). Im Prinzip kann aber dies Verhältnis nicht die obige Auffassung ändern, da der Harnstoff des Blutes hier einen Indikator des Harnstoffgehaltes der Gewebe bilden muß. Jedenfalls muß ein normaler Harnstoffgehalt des Blutes einem normalen Gehalt der Gewebe entsprechen. Dagegen braucht eine vorbeigehende Hypercarbamidämie nicht immer eine ähnliche der Gewebe anzuzeigen.

Die Kaninchenversuche wurden in der Weise angestellt, daß den Tieren teils 10 g Witte-Pepton in 100 ccm Wasser, teils 5 g Casein in 100 ccm alkalisierter Milch gelöst mit der Sonde

einverleibt wurden. In keinem von diesen 4 Doppelversuchen trat eine Steigerung des Harnstoffgehaltes des Blutes ein. Und nur in einem Caseinversuch fand eine recht unbedeutende Steigerung des Aminosäuregehaltes im Blute statt, trotzdem doch über 8 g Eiweiß gegeben wurden. In dem zweiten Caseinversuch blieben die sämtlichen Werte unverändert. Das Casein wurde nicht als solches ausgeschieden. (In dem einen Versuch war der Harn eiweißfrei, im zweiten kamen Speisen von Eiweiß vor. Die Versuche sind in der folgenden Abhandlung ausführlich wiedergegeben.) Die Kaninchen verhalten sich also anscheinend von Hunden und Menschen verschieden. Hierbei ist doch zu bemerken, daß eine proportionsweise viel geringere Eiweißmenge den Kaninchen einverleibt wurde. Indessen bedingte die Einführung von 30 g Witte-Pepton bei dem Dachs eine Steigerung des Harnstoffes im Blute von 7 mg (Doppelversuch) auf 24 mg nach 6 Stunden. Und weiter zeigten Kaninchen nach Einführung von 3 g Glykokoll eine unzweideutige Steigerung des Aminosäuregehaltes im Blute. Eiweiß und Aminosäuren sind also in dieser Beziehung nicht gleichwertig, wie auch die folgenden Versuche mit Einführung von Aminosäuren unzweideutig zeigen.

Untersuchungen über den Reststickstoff des Blutes.

III. Mitteilung.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem med.-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 16. September 1915.)

Mit 1 Figur im Text.

In der vorhergehenden Abhandlung wurde bewiesen, daß die Einführung von Eiweiß im Darmkanal bei Menschen, Kaninchen und Hunden keine Steigerung der Aminosäuremenge im Blute bedingt. Nur nach Eingabe von überreicher Eiweißmenge findet man eine Hypercarbamidämie, die bei gewöhnlicher Nahrung in der Regel fehlt, aber auch bisweilen in geringerem Grade auftreten kann. Da nun nach der gewöhnlichen Auffassung das Eiweiß im Darmkanal in Aminosäuren abgebaut und als solches resorbiert wird, war es nicht ohne Interesse, nachzusehen, welchen Einfluß die Einführung von Aminosäuren selbst auf dem Blutbild besitzt. Solche Versuche sind auch in größerem Maßstabe, hauptsächlich an Kaninchen, gelegentlich aber auch bei Menschen und Hunden ausgeführt worden. Sie haben sämtlich ein eindeutiges Resultat geliefert. Deswegen brauchen nur einige Beispiele angeführt zu werden. Die verwendeten Aminosäuren waren Glykokoll und Alanin, die vollkommen miteinander übereinstimmten. Nur die Glykokollversuche werden hier mitgeteilt.

Im Gegensatz zur Fütterung mit Eiweiß bedingt also die Zufuhr von Aminosäuren an Kaninchen eine deutliche Steigerung des Aminosäuregehaltes im Blute, wenn die gegebene N-Menge als Eiweiß und Glykokoll etwa gleich groß ist. Der Unterschied kann dadurch bedingt sein, daß aus dem Eiweiß

Tabelle I.

	Versuch Nr. 1. Total Rest-N	+ Ur-N	A.-säure-N	Steigerung des A.-säure-Ns	Versuch Nr. 2. Total Rest-N	+ Ur-N	A.-säure-N	Steigerung des A.-säure-Ns
Präformiert . .	38	14	24	—	26	10	16	—
10′ nach Eingabe von Glykokoll	40	15	25	—	—	—	—	—
20′	37	12	25	—	—	—	—	—
30′	40	14	26	—	—	—	—	—
1h	53	12	41	17	51	11	40	24
2h	56	—	—	—	46	13	33	17
3h	58	23	35	11	47	17	30	13
6h	64	24	40	16	50	19	31	14
10h	49	22	27	3	43	25	18	2
24h	45	17	28	4	—	—	—	—

Glykokoll N im Harn ausgeschieden: 479 mg.[1]   315 mg.
Eingeführte Glykokollmenge = 10 g in 100 ccm Wasser per Sonde.

die Aminosäuren nur so langsam abgespalten werden, daß keine Überschwemmung des Blutes mit auf einmal resorbierten Säuren stattfinden kann. Dies ist aber bei Zufuhr von reinen Aminosäuren der Fall. Die Leber hält zwar einen Teil davon zurück, der augenblicklich in Harnstoff umgebildet wird. Und diese Harnstoffbildung ist sogar so groß, daß die Ausscheidung damit nicht Schritt halten kann, und eine Hypercarbamidämie tritt ebenfalls ein — auch im Gegensatz zur Fütterung mit Eiweiß. Eine andere Möglichkeit ist, daß das Eiweiß nur zum Teil als Aminosäure resorbiert wird. Die Tatsache, daß schon 3 g Glykokoll in 100 ccm Wasser gegeben eine Steigerung des Aminosäuregehaltes des Blutes mit Ausscheidung desselben aus den Nieren bewirken (siehe unten), während also die 3 fache Eiweißmenge keine oder eine weit geringere Steigerung bedingt, kann für diese Möglichkeit sprechen. Diese Frage ist jedoch hiermit lange nicht entschieden.

Die Steigerung des Aminosäuregehaltes ist schon 1 Stunde nach der Zufuhr zu beobachten. Sie dauert mehrere Stunden, wobei zu berücksichtigen ist, daß ein großer Teil durch die Nieren ausgeschieden wird.

Der Gegensatz zwischen Fütterung von Aminosäuren auf der einen Seite und Eiweiß — auch als Albumosen — ander-

[1]) In diesem wie den übrigen folgenden Versuchen wurde der gefundene Formol-N als Aminosäure-N gerechnet.

seits ist so frappant, daß es vielleicht nicht überflüssig erscheint, einige Belege hierfür anzuführen (Kaninchenversuche).

Tabelle II.

Versuch Nr. 1. Versuch Nr. 2.

	Rest-N	+ Ur-N	A.-säure-N	Rest-N	+ Ur-N	A.-säure-N
Präformiert	24	12	12	39	12	27
"	23	—	—	—	11	—
$10^h 20'$ vorm.	10 g Casein in 100 ccm Milch			10 g Witte-Pepton in 100 ccm H_2O		
Nach 1^h . .	—	—	—	36	10	26
" 2^h . .	27	13	14	35	10	25
" 4^h . .	26	9	17	35	14	21
" 6^h . .	25	12	13	35	14	21
" 10^h . .	21	10	11	30	11	19

Kein Eiweiß ausgeschieden.

Im Vergleich mit dem Verhältnis des Blutzuckers nach Einführung von Traubenzucker und Stärkelösung zeigt die Zufuhr von Aminosäuren und ihrer Polyverbindung einen bestimmten Unterschied: Sowohl Stärke wie Zucker bedingen Hyperglykämie von ungefähr derselben Größe, was besagt, daß die Verzuckerung der Stärke sehr rasch und ausgiebig stattfindet. Dagegen verläuft die Eiweißhydrolyse jedenfalls viel langsamer, was mit den auf anderen Wegen gefundenen Ergebnissen übereinstimmt.

Im Vergleich mit der Zuckerresorption findet die Resorption von Aminosäuren etwas langsamer statt. Erst nach einer Stunde findet man eine beginnende Steigerung des Aminosäuregehaltes im Blute, während die Hyperglykämie schon nach einer halben Stunde oder früher zu finden ist.

Die Frage, inwieweit die Assimilation des Zuckers entsprechend schneller stattfindet, als die der Aminosäuren (d. h. Umbildung in Glykogen bzw. Desamidierung), läßt sich nicht exakt aus den vorliegenden Daten ermitteln. Zwar ist die relative Steigerung im Blute für beide etwa gleich groß. Dagegen wird von den Aminosäuren immer — und viele andere Versuche liegen vor — ein recht großer Teil — etwa 20% — im Harn ausgeschieden, was bei Zufuhr von Zucker in der Regel fehlt. Wieviel dagegen von den Geweben aufgenommen wird, läßt sich nicht ermitteln. Die Untersuchung des Blutes

allein (neben dem Harne) ist also für die Entscheidung unzureichend.

Dagegen besteht in einer anderen Beziehung eine interessante Übereinstimmung zwischen Aminosäuren und Traubenzucker: Nach Einführung von Aminosäuren an Hungerkaninchen ist die Steigerung im Blute bedeutend höher als bei wohlernährten Tieren.

Tabelle III.

	Versuch Nr. 1.				Versuch Nr. 2.			
	Rest-N	+ Ur-N	A.-säure-N	Steigerung des A.-säure-Ns	Rest-N	+ Ur-N	A.-säure-N	Steigerung des A.-säure-Ns
Präformiert . .	88	57	31	—	71	33	37	—
1h nach der Eingabe von Glykokoll	98	54	44	13	100	43	57	20
2h	134	58	76	45	128	45	83	46
6h	144	69	75	44	130	48	82	45
10h	150	74	76	45	136	65	71	34

Glykokoll-N im Harn ausgeschieden: 348 mg. 1440 mg.
Eingeführte Glykokollmenge = 10 g in 100 ccm H_2O per Sonde.

Während bei den wohlernährten Tieren nach Glykokollzufuhr die Steigerung im Blute nur 17 bzw. 24 mg Aminosäure-N war, zeigen die Hungertiere Steigerungen von 45 bis 46 mg, also die doppelte Steigerung. Diese Verhältnisse gehen sehr überzeugend aus der graphischen Darstellung der Versuche (vgl. Kurve 1) hervor. Dementsprechend sind im Ver-

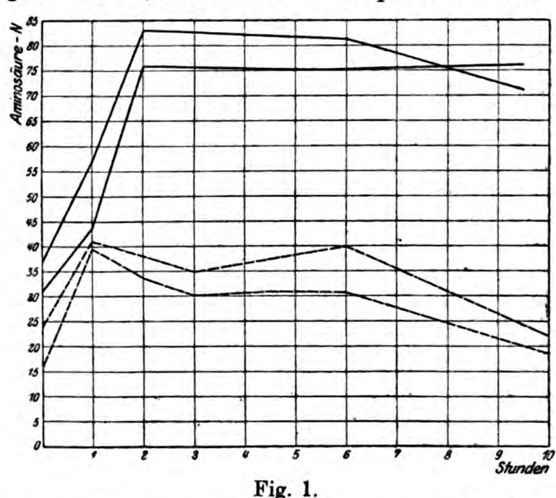


Fig. 1.

Glykokollversuche. ——— Hungerversuche. ------ Wohlernährtes Tier.

such Nr. 2 nicht weniger als 1470 mg Glykokoll-N von den eingeführten 1870 mg ausgeschieden. Die Leber hat folglich nur sehr wenig Glykokoll assimiliert (desamidiert). Im scheinbaren Gegensatz hierzu steht Versuch Nr. 1, wo nur 348 mg Glykokoll-N ausgeschieden worden ist. Für diesen Versuch ist jedoch zu bemerken, daß das Tier in der folgenden Nacht starb. Man könnte deswegen vermuten, daß die Ausscheidung nicht beendet worden war. Diese Folgerung ist jedoch vielleicht unrichtig. 90 ccm Harn wurden nämlich ausgeschieden, die jedenfalls den meisten Teil des zur Ausscheidung gelangten Glykokolls enthalten dürften. Versuche mit fraktionierter Aufsammlung des Harns zeigten, daß der größte Teil in den ersten 12 bis 24 Stunden ausgeschieden wurde. Eine andere Erklärung ist nämlich auch denkbar: Von 6 Versuchen mit Hungerkaninchen starben nach Einführung von Glykokoll 3 Tiere: 1 Kaninchen nach etwa 3 Stunden, die zwei übrigen nach 16 bis 24 Stunden. Diese schieden 348 mg bzw. 315 mg Glykokoll-N aus. Die übrigen drei, die überlebten, schieden 1470 mg, 1870 mg und 660 mg Glykokoll-N aus. Die Kaninchen, die den größten Teil des Glykokolls unverändert ausschieden, überleben, die übrigen sterben[1]). Nimmt man an, daß im letzten Falle eine ausgiebigere Desamidierung stattgefunden hat, so muß demzufolge eine entsprechend größere Säurebildung eingetreten sein. Und eben Hungerkaninchen sind für eine Säurevergiftung besonders empfindlich. Die Kaninchen hatten nur 5 bis 6 Tage gehungert und sind also nicht wegen Hunger allein eingegangen. Solche Kaninchen vertragen z. B. ausnahmsweise eine Einführung von 10 g Eiweiß in 100 g Wasser. (Hier muß die Desamidierung erst nach und nach eintreten.) Welche Erklärung die richtige ist, läßt sich nicht mit Bestimmtheit entscheiden. Die Wahrscheinlichkeit spricht aber für die letzte Erklärung. (Daß eine Überschwemmung mit Aminosäuren an sich im Blute irrelevant ist, soll unten erwiesen werden.)

Aus den Versuchen ist aber die Folgerung berechtigt, daß ebenso wie die hungernde Leber nicht den Zucker so ausgiebig

---

[1]) In den Alaninversuchen schieden die Hungertiere nach Einführung von 10 g Alanin: 1. 492 mg, 2. 585 mg, 3. 523 mg Alanin-N aus. Die wohlernährten Tiere dagegen nur: 1. 289 mg, 2. 229 mg und 3. 301 mg Alanin-N.

zu assimilieren vermag wie die normale, ebensowenig vermag sie die im Blute eingeführten Aminosäuren so vollständig aufzunehmen wie die normale Leber.

Wie schon oben erwähnt, wird sowohl bei den wohlernährten wie bei den Hungertieren eine beträchtliche Quantität des eingeführten Glykokolls mit dem Harn ausgeschieden. Die Quantität ist im Vergleich mit dem Verhalten nach Einführung von Zucker bedeutend größer. Anderseits ist der Gehalt an Glykokoll im Blute maximal nur 0,12 bis 0,24 %, während eine entsprechende Hyperglykämie überhaupt keine Glykosurie bedingt, vorausgesetzt, daß keine Nierenerregung vorliegt. Die Nieren besitzen also in weit geringerem Grade die Fähigkeit Aminosäuren als Traubenzucker zurückzuhalten, trotzdem beide physiologische Blutbestandteile sind.

Es fragt sich dann zunächst, wo liegt der Grenzwert, bei dem die Nieren noch die Aminosäuren zurückzuhalten vermögen, und welches ist die geringste Konzentration des Blutes von Aminosäuren, bei der noch eine Ausscheidung stattfindet. Wahrscheinlich sind zur Feststellung dieser Werte recht zahlreiche Versuche notwendig, da möglicherweise individuelle Unterschiede vorliegen können. Zur Orientierung können jedoch die folgenden Versuche dienen:

Tabelle IV.

	Versuch Nr. 1.			Versuch Nr. 2.		
	Rest-N	+ Ur-N	A.-säure-N	Rest-N	+ Ur-N	A.-säure-N
Präformiert	40	19	21	34	17	17
2h nach Zufuhr von Glykokoll	38	19	19	53	23	30
3h nach Zufuhr von Glykokoll	42	21	21	56	19	37
5h nach Zufuhr von Glykokoll	40	20	20	48	26	22
9h nach Zufuhr von Glykokoll	35	23	12	43	23	20
Harn Tage vorher	16,3 mg Aminosäure-N			23,5 mg Aminosäure-N		
" Versuchstag	20,0 " "			49,4 " "		

Im Versuch Nr. 1 2 g Glykokoll eingeführt, im Versuch Nr. 2 3 g in 100 ccm H_2O. Gewicht: Kaninchen Nr. 1 3000 g, Nr. 2 2600 g.

Eine Zufuhr von 2 g bedingt also keine Ausscheidung, aber auch keine Steigerung des Aminosäuregehaltes im Blute. Nach Einführung von 3 g findet man aber eine ebenso große Steigerung im Blute wie nach Einführung von 10 g, dagegen ist die

Ausscheidung nur der 10. Teil. In einem anderen Versuch wurden 3 g Glykokoll in 100 ccm Milch eingeführt. Blutanalysen wurden nicht ausgeführt. 80 mg Glykokoll-N wurden ausgeschieden gegenüber ca. 6 mg am Tage vorher (ein Teil des Harnes ging verloren, 66 ccm enthielten 3 mg). Es ist also gleichgültig, ob das Glykokoll als wäßrige Lösung oder mit Eiweiß und Zucker zusammen zugeführt wird.

Der Organismus befreit sich folglich für den Teil der eingeführten Aminosäuren, der die Leber passiert, durch Ausscheidung durch die Niere. Und die Leberinsuffizienz tritt sogar nach Einführung von recht geringen Aminosäurequantitäten ein, wenn auf einmal die Leber damit überschwemmt wird. Eine 3 mal größere Quantität in Form von Eiweiß wird quantitativ zurückgehalten.

Allerdings bleibt hier wie nach Einführung von Zucker die Möglichkeit zu berücksichtigen, daß auch die Gewebe einen größeren oder geringeren Teil aufzunehmen vermögen, welcher dann nach und nach wieder ins Blut übergeführt wird. Über diese Frage können die folgenden Versuche unterrichten.

Tabelle V.

	Versuch Nr. 1.			Versuch Nr. 2.		
	Rest-N	+ Ur-N	A.-säure-N	Rest-N	+ Ur-N	A.-säure-N
Präformiert	37	14	23	36	13	23
1′ nach der Injektion	132	15	117	110	26	84
5′	130	14	116	100	24	76
10′	—	—	—	100	18	82
1^h	124	10	114	81	15	66
2^h	79	15	64	70	15	55
4^h	60	18	42	68	10	58
7^h	70	11	59	53	16	47
10^h	55	12	43	41	12	39

Im Versuch Nr. 1 wurden 5 g Glykokoll in 50 ccm H_2O intravenös injiziert, im Versuch Nr. 2 wurden 5 g Alanin in derselben Weise eingespritzt. Rest-N-Bestimmung nach der Hg-Methode.

In dem Glykokollversuch wurden 5 g Glykokoll mit 930 mg N injiziert, die Steigerung im Blute ist aber maximal nur 117 mg oder 0,52% Glykokoll. Im Laufe der folgenden 24 Stunden wurden nur 360 mg Glykokoll-N mit dem Harne ausgeschieden. Hieraus läßt sich folgern, daß ebenso wie bei Injektion von

Traubenzucker ein größerer Teil von der Leber und den Geweben aufgenommen wird. Da aber in diesem Versuch keine Steigerung des Harnstoffgehaltes vorgefunden ist, und da, nach den früheren Versuchen zu urteilen, die von der Leber aufgenommenen Aminosäuren sehr rasch in Harnstoff umgebildet werden, darf man folgern, daß beinahe $^2/_3$ der eingeführten Glykokollmenge von den Geweben fixiert wird. Eine genauere Analyse des Harnes macht diese Folgerung noch wahrscheinlicher. Im Laufe der ersten Stunde nach der Injektion wurden 74 ccm Harn mit 220 mg Glykokoll-N ausgeschieden. Nicht weniger als 710 mg Glykokoll-N sind also von dem Organismus fixiert und davon 600 mg von den Geweben. In den folgenden 23 Stunden wurden 80 ccm Harn mit nur 140 mg Glykokoll-N ausgeschieden. Von dem Momente ab, wo die Glykokollkonzentration des Blutes zu sinken anfängt, wird ebenfalls die Ausscheidung durch die Nieren weit weniger ausgiebig. Der Alaninversuch stimmt mit dem Glykokollversuch völlig überein; zwar ist die absolute Steigerung im Blute etwas geringer, auf Glykokoll und Alanin umgerechnet ist doch der Unterschied recht unbedeutend (0,5 $^0/_0$ Glykokoll und 0,39 $^0/_0$ Alanin). Anderseits verläuft die Kurve der Aminosäurekonzentration in beiden Fällen parallel. Ebenso die Verteilung des Alanins unter dem Harn und den Geweben, indem von 780 mg Alanin-N nur 210 mg in den folgenden 24 Stunden ausgeschieden wurden. In der Zeit von 24 bis 48 Stunden nach der Injektion wurden nur 11,2 mg Aminosäure-N ausgeschieden. Die Ausscheidung ist also in den ersten 24 Stunden beinahe beendet, was nicht befremden kann, da der Rest-N bzw. die Aminosäurekonzentration des Blutes auf den normalen Wert herabgesunken ist (den Tag nachher waren die Werte 40 mg, Rest-N mit 12 mg Harnstoff-N). Im Vergleich mit den Resorptionsversuchen ist es sehr interessant konstatieren zu können, daß dort die Steigerung des Aminosäuregehaltes im Blute beinahe ebenso groß war (83 mg gegen 117 mg), trotzdem hier ein größerer oder geringerer Teil des Glykokolls in Harnstoff umgebildet wurde. Die Verteilung nach Injektion und Resorption dürfte demgemäß nicht ganz übereinstimmen. Schließlich sei bemerkt, daß die Kaninchen nach der intravenösen Zufuhr von Aminosäuren keine Vergiftungssymptome zeigten.

An Hunden wurde nur ein Glykokollversuch ausgeführt, um nachzusehen, inwieweit diese Tiere sich wie Kaninchen verhalten. An einen Dachs von ca. 8 kg wurden 25 g Glykokoll mit 4,7 g N in 25 g Fleischbrei gegeben. Eine Stunde nachher wurde ein Teil ausgebrochen, der jedoch wieder nach Verdünnung mit Wasser auf 100 ccm mit Magensonde eingeführt werden konnte. Eine Stunde später wieder Erbrechen, das Erbrochene enthielt 826 mg Glykokoll-N. Etwas mehr als 20 g Glykokoll wurde also resorbiert, ungefähr dieselbe Menge pro kg wie bei den Kaninchen.

Tabelle VI.

	Rest-N	+ Ur-N	A.-säure-N	Steigerung des A.-säure-Ns
Präformiert	46 [1]	23	23	—
30′ nach Zufuhr v. Glykokoll	57	28	29	9
1h " " " "	68	34	34	11
2h " " " "	52	39	23	—
5h " " " "	47	39	8	—
8h " " " "	45	31	14	—
12h " " " "	59	30	29	6
24h " " " "	41	32	9	—

Wie ersichtlich, stieg der Aminosäuregehalt im Blute nur ganz unbedeutend an. Dementsprechend wurden auch nur 129 mg Glykokoll-N mit dem Harn ausgeschieden. In einem Versuch an einem anderen Hund von etwa demselben Gewicht wurden nach Einführung von 25 g Alanin mit 3,9 g N (davon wurden 742 mg Alanin-N aufgebrochen), 514 mg Alanin-N mit dem Harne ausgeschieden. Im Blute war die Steigerung des Aminosäure-Ns unbedeutend.

Es scheint also, als ob der Hund noch besser als das Kaninchen die Aminosäuren verwerten kann, was auch mit der korrespondierenden größeren Steigerung des Harnstoff-Ns im Blute übereinstimmt. Es ist auch sehr plausibel, daß der Fleischfresser besser die Aminosäuren desamidiert als der Pflanzenfresser es vermag.

Schließlich wurde an einem Studenten, 21 Jahre alt, 75 kg Gewicht, ein Versuch angestellt, in dem um 10h 30′ vorm. 50 g Glykokoll in 250 ccm Milch neben etwas Kaffee und Butterbrot eingeführt wurde. Nach 15 bis 30′ stellte sich eine

[1]) Die Analysen wurden nach der Hg-Methode ausgeführt.

starke Neigung zum Erbrechen ein (aber kein Erbrechen). Um 30ʰ 30′ nachm. Mittagessen, Fleisch, Kartoffeln und Dessert.

Tabelle VII.

	Rest-N	+ Ur-N	A.-säure-N	Steigerung des A.-säure-Ns
Präformiert	31 [1])	14	17	—
"	36	15	21	—
1ʰ nach Zufuhr v. Glykokoll	60	18	42	21
2ʰ " " " "	51	23	28	9
4ʰ " " " "	68	19	49	32
10ʰ " " " "	59	22	37	20
24ʰ " " " "	30	14	16	—

Nach dem einen Versuch zu beurteilen, besitzt der Mensch mehr Übereinstimmung mit dem Pflanzen- als mit dem Fleischfresser, da ein kleiner Hund von 6 kg eine weit geringere Steigerung des Aminosäuregehaltes nach 25 g Glykokoll als ein Mensch von 75 kg nach 50 g zeigt. Umgekehrt ist die Steigerung des Harnstoffs im Blute beim Hund bedeutend größer. Um diese Verhältnisse exakt feststellen zu können, sind noch viele Versuche notwendig.

---

[1]) Die Hg-Methode.

Untersuchungen über den Reststickstoff des Blutes.

IV. Mitteilung.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem med.-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 16. September 1915.)

Mit 1 Figur im Text.

In den zwei vorhergehenden Abhandlungen (II und III) ist das Verhalten des Blutes nach Nahrungsaufnahme studiert worden, wobei das Hauptgewicht auf den Unterschied zwischen der Wirkung des Eiweißes und der Aminosäure gelegt worden ist. Um die Verhältnisse noch vollständiger überblicken zu können, wurden außerdem Versuche mit Zufuhr von Harnstoff angestellt. Der Harnstoff wurde teils mit Magensonde, teils intraperitoneal und teils intravenös eingeführt. Die Versuche wurden teils an wohlernährten, teils an Hungerkaninchen angestellt.

Bei den Versuchen per os stellte sich die anfangs überraschende Tatache ein, daß der Harnstoff bisweilen sehr giftig wirkte, und zwar besonders an Hungerkaninchen. Von 6 Versuchen an wohlernährten Kaninchen überlebten vier, und zwei starben. Von 3 Versuchen an Hungertieren (5 Tage Hunger) starben sämtliche. Ein Kaninchen überlebte nach 3 Hungertagen die Harnstoffzufuhr, die überall 10 g Harnstoff betrug. Von den wohlernährten Kaninchen starben die Tiere, die Hafer, Heu und Wasser bekommen hatten. Nach Fütterung mit Rüben und Kohle überlebten sie. Der am nächsten liegende Gedanke war, daß bei den Hungertieren das Blut schneller mit Harnstoff überschwemmt wurde und daß diese schnelle Steigerung der Konzentrationsgefälle für den Tod verantwortlich war. Inwieweit ein solcher Unterschied zwischen

den ernährten und hungernden Tieren existiert, ist aus den Versuchstabellen ersichtlich.

Tabelle I.

	Versuch Nr. 1. (Wohlernährtes Tier.) $\overset{+}{\text{Ur}}$-N	Versuch Nr. 2. (Hungertier.) $\overset{+}{\text{Ur}}$-N
Präformiert	12	22—24
5' n. $\overset{+}{\text{Ur}}$-Zufuhr	—	30
10' " "	—	40
15' " "	46	65
25' " "	—	83
30' " "	73	—
35' " "	—	94
45' " "	79	102
1^h " "	85	113
$1^1/_4{}^h$ " "	100	—
$1^1/_2{}^h$ " "	—	108
$1^3/_4{}^h$ " "	—	118
2^h " "	93	118
3^h " "	104	†
4^h " "	97—102	
7^h " "	73	
10^h " "	53	
24^h " "	40	
48^h " "	24	

Wie aus den Versuchen hervorgeht, findet man schon wenige Minuten nach der Zufuhr des Harnstoffes eine deutliche Steigerung im Blute, die rasch und regelmäßig fortgesetzt wird, um eine Stunde nach der Einführung des Harnstoffes ihr Maximum — etwa $0{,}2\,^0/_0$ Harnstoff — zu erreichen. Zwischen hungernden und ernährten Tieren ist der absolute Unterschied so unbedeutend, daß man unmöglich daraus die tödliche Wirkung erklären kann. Und andere Versuche stimmten damit überein. Sie brauchen hier nicht erwähnt zu werden, da die Versuche mit intravenöser (und intraperitonealer) Einführung die Entscheidung gebracht haben, daß die obige Möglichkeit nicht zutreffend ist (siehe unten).

Der Vergleich der Resorptions- und Ausscheidungsgeschwindigkeit von Harnstoff und Glykokoll zeigt recht interessante Verhältnisse. Wie man erwarten konnte, wird der Harnstoff als ein verhältnismäßig leicht passiv permeabler Körper sehr rasch resorbiert, erreicht recht bald seine Maximalkonzen-

tration im Blute, um dann ebenfalls nach verhältnismäßig kurzer Zeit anzufangen abzusinken. Doch bleibt eine gewisse Hypercarbamidämie noch lange bestehen. Das Glykokoll, das als impermeable Substanz aktiv resorbiert werden muß, tritt erst später in nachweisbarer Menge im Blute auf, erreicht ebenfalls später als der Harnstoff sein Maximum und persistiert hier lange unverändert. Schon nach 15 Minuten ist die Harnstoffkonzentration um **300%** gestiegen. Vor einer Stunde ist in den Glykokollversuchen keine Steigerung zu finden, und nach einer Stunde ist sogar an den Hungerversuchen die Steigerung nur **30%**. Diese Verhältnisse dürften übersichtlich aus der Kurventafel hervorgehen.

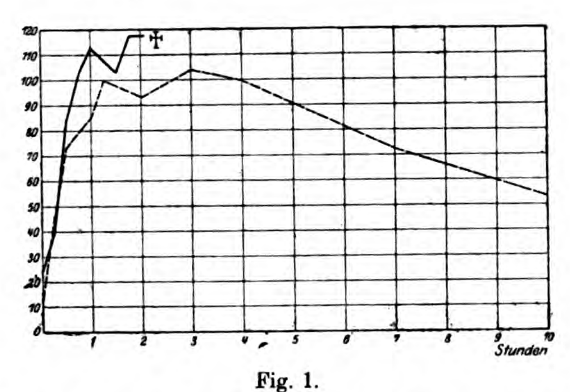


Fig. 1.

Harnstoffversuch. ——— Hungertier. ----- Wohlernährtes Tier.

Ebenso wie die Steigerung des Harnstoffversuches schneller eintritt, ist ebenfalls die Größe der Steigerung hier höher, wenn man den Stickstoffgehalt allein berücksichtigt. Rechnet man aber die Werte auf Glykokoll und Harnstoff um, so ist die maximale Steigerung des Glykokolls im Blute 0,4%, des Harnstoffs aber nur 0,2%, was sicher damit zusammenhängt, daß der Harnstoff schneller ausgeschieden wird und ebenfalls als permeabel rasch von den Geweben passiv aufgenommen wird, was mit dem Glykokoll nicht der Fall sein kann. (Dagegen wird es — wie auch z. T. der Harnstoff? — aktiv aufgenommen.)

Die Injektionsversuche wurden mit Einspritzung von 10%iger Harnstofflösung in die Ohrvene angestellt.

Tabelle II.

	Versuch Nr. 1. (Wohlernährtes Tier.)	Versuch Nr. 2. (Hungertier.)	Versuch Nr. 3 (Hungertier.)
	$\overset{+}{\text{Ur}}$	$\overset{+}{\text{Ur}}$	$\overset{+}{\text{Ur}}$
Präformiert	3—4	52—57	14
Während der Injektion von	44	—	—
	66	—	—
10 g $\overset{+}{\text{Ur}}$: 100 N_2O von 10^h	140	—	—
20′ bis 10^h 30′.	140	—	—
3′ n. d. Injektion	147	140	—
6′ „ „ „	—	184	—
9′ „ „ „	—	208	—
14′ „ „ „	—	191	—
20′ „ „ „	—	223	—
30′ „ „ „	138	—	111
1^h „ „ „	147	—	120
2^h „ „ „	123	—	109
10^h „ „ „	38	—	62

In den Versuchen 1 und 2 wurde der Harnstoff (10 g) intravenös, in dem dritten intraperitonal ausgeführt. Zwei andere Versuche mit intravenöser Injektion von $\overset{+}{\text{Ur}}$ lieferten dasselbe Ergebnis.

Die Versuchstiere waren während und nach der Injektion vollkommen normal. Nur trat eine Hämoglobinurie ein, die jedoch die Tiere nicht weiter beeinflußte. Da, wie ersichtlich, die Harnstoffsteigerung in diesen Versuchen bedeutend größer und schneller ist, als nach der Zufuhr per os, kann unmöglich der Tod der Versuchstiere nach Zufuhr per os dadurch erklärt werden.

Aus den intravenösen Harnstoffversuchen geht weiter die Tatsache hervor, daß ein großer Teil des Harnstoffes momentan aus dem Blute verschwindet. Etwa 4,700 mg Harnstoff-N wurden injiziert und im Blute sind nur 150—200 mg zu finden, oder eine nicht wesentlich größere Quantität als bei den Resorptionsversuchen. Zwar ist der Harnstoff ein mächtiges Diureticum, und die Harnsekretion setzt auch augenblicklich ein. Z. B. wurden 5 Minuten nach beendigter Injektion (Versuch Nr. 1) 54 ccm Harn geliefert (davon jedoch ein Teil von der Vorperiode herstammend). Dieser Harn enthielt jedoch nur 75,6 mg N, und folglich sind über 4000 mg N, d. h. etwa 9,9 Harn-

stoff in den Geweben deponiert worden. Früher ist erwiesen, daß daselbe nach Einführung von Zucker und Aminosäuren, sowie von anderen Forschern — vor allen Bock — nach intravenöser Injektion von Salzen stattfindet. Die Gewebe besitzen also das allgemeine Vermögen, lösliche Stoffe, die überschüssig im Blute eingeführt werden, aufzunehmen.

Die Versuchsergebnisse können außerdem die Frage beantworten, inwieweit der Harnstoff ganz passiv von den Geweben aufgenommen wird, oder ob eine aktive Magazinierung vorkommt. Wird der Harnstoff allein passiv aufgenommen, muß er sich gleichmäßig in der Gewebeflüssigkeit verteilen. In dem Versuch Nr. 1 hatte das Kaninchen ein Gewicht von 2400 g. Rechnet man für das ganze Tier einen Wassergehalt von etwa zwei Drittel des Gesamtgewichtes, enthält also das Tier etwa 1600 g Wasser. 4,700 mg Harnstoff-N wurden aufgenommen, was unter Voraussetzung einer gleichmäßigen Verteilung 300 mg Harnstoff-N auf 100 g Wasser bedeutet. Nun ist aber der maximale Gehalt im Blute nur die Hälfte. Hieraus wird gefolgert, daß der Harnstoff nicht gleichmäßig verteilt wird, sondern, daß die Gewebe mehr Harnstoff, als nach dem Verteilungsgesetz berechnet, aufgenommen haben. Infolgedessen müssen die Gewebe die Fähigkeit besitzen, den Harnstoff aktiv aufzunehmen und als eine komplexe Verbindung zu fixieren, wodurch der sonst eingetretene bedeutende osmotische Überdruck ausgeglichen werden kann.

Zweitens geht aus den Harnstoffversuchen (Tabelle I und II, die Versuche Nr. 1) die wichtige Tatsache hervor, daß der Harnstoff zwar nach einigen Stunden wieder aus dem Blute entfernt wird, doch bleibt eine gewisse Hypercarbamidämie zurück, die im Vergleich mit den Ursprungswerten eine beträchtliche ist. Daraus läßt sich folgern, daß die Nieren so stark in Anspruch genommen worden sind, daß schließlich eine Nierenmüdigkeit eintritt, und die Ausscheidung sehr verlangsamt wird. Diese Folgerung setzt voraus, daß die Harnstoffausscheidung durch die Nieren ein Sekretionsprozeß und keine Filtration ist, und die Versuche dürften recht überzeugend hierfür sprechen. (Andere Versuche stimmten mit den obigen in dieser Beziehung überein.) Der Harnstoff wird ebenso wie die Aminosäuren und der Zucker durch eine aktive Nierentätig-

keit ausgeschieden. Ein Vergleich zwischen den Ausscheidungskurven nach Einführung von Harnstoff-Aminosäuren und Zucker zeigt die vollkommene Übereinstimmung ihres Ausscheidungsmechanismus.

Für die Erklärung der Giftwirkung des Harnstoffes, per os gegeben, war das Vergiftungsbild von Interesse. In der ersten Zeit, etwa 30 Minuten bis beinahe 2 Stunden nach der Einführung des Harnstoffes, war nichts zu bemerken. Dann fängt das Tier an, sehr schnell zu respirieren und wird zugleich paretisch, der Kopf sinkt nieder. Das Tier fällt oft auf die Seite und richtet sich mit großer Mühe auf. Deutlichen Tremor in den Hinterbeinen. Die Reflexerregbarkeit ist deutlich gesteigert. Beim Klatschen der Hände treten starke Zuckungen ein. Dann treten nach einigen Minuten gewaltige tonische Krämpfe momentan ein. Das Tier liegt in stärkstem Opisthotonus, der minutenlang dauert und von einer starken Erschöpfung abgelöst wird. Das Tier liegt nun wie tot mehrere Minuten, um dann wieder momentan von den tonischen Krämpfen mit Opisthotonus überfallen zu werden. Der Tod tritt jetzt durch Respirationsstillstand ein oder das Tier stirbt nachher aus Erschöpfung.

Das Bild hat mit der Urämie viel Ähnlichkeit und ebenso mit der Ammoniakvergiftung. Es war auch nicht unwahrscheinlich, daß der Harnstoff im Darmkanal durch die bakterielle Gärung teilweise in Ammoniak umgebildet werden könnte. Die Richtigkeit dieser Vermutung wurde auch experimentell bewiesen.

Das Blut wurde den sterbenden Tieren entnommen und in viel Kochsalz in Substanz (oder gesättigte KCl-Lösung, 50 ccm) aufgenommen. Nach der Wägung wurde ein Überschuß von Methylalkohol zugesetzt und das Gesamtvolum notiert. Ein möglichst großer Teil des Filtrates wurde mit 5 ccm $20\,^0/_0$iger Sodalösung versetzt, und das Ammoniak bei einer 45^0 nicht übersteigenden Temperatur mittels Durchleiten von NH_3-freier Luft in den Verlag mit $^n/_{35}$ Schwefelsäure übergetrieben. Untersuchungen an Normalkaninchen ergaben in einem Versuch **0,81** mg NH_3-N in 100 g Blut, in einem anderen **1,27** mg: 100 g Blut, die Werte stimmen sehr gut mit den von Nencki und seinen Schülern gefundenen überein (dagegen sind sie bedeutend höher

als Folins Normalwerte, die jedoch unmöglich richtig sein können).

Ein Kaninchen, das 10 g Harnstoff per os bekam und zwei Stunden später das typische Vergiftungsbild zeigte, lieferte **6,25** mg NH_3-N : 100 g Blut.

Daß diese NH_3-Konzentration genügt, um das Vergiftungsbild hervorzurufen, zeigten Versuche mit Einführung von Ammoniumacetat und -Carbonat zur Genüge.

Eine Stunde nach der Zufuhr von 5 g (bzw. 7 g in einem anderen Versuche) Ammoniumacetat starben die Tiere an Opisthotonus. Das Blut enthielt **5,12** mg und **6,0** mg NH_3-N auf 100 g.

Nach Einführung von 2,3, 2,6 und 3,0 g Ammoniumcarbonat starben die Tiere nach $1^1/_2$ Stunde, 15 Minuten und 1 Stunde. Das Blut enthielt **6,18**, **8** und **3,8** mg NH_3-N auf 100 g.

Nach Einführung von geringeren Quantitäten von Ammoniaksalzen überlebten die Tiere. Ein Kaninchen überlebte auch die Zufuhr von 7 g Ammoniumacetat ohne drohende Symptome.

Da also nach Harnstoffzufuhr eine solche NH_3-Konzentration im Blute gefunden wird, die an sich imstande ist, das Vergiftungsbild hervorzurufen, kann die Erklärung nicht zweifelhaft sein. Der Harnstoff wird im Darmkanal zerlegt und das gebildete Ammoniak resorbiert. Die Leber wird nach Vermögen das NH_3 wieder als Harnstoff entgiften. Ist aber die Leberwirkung unzureichend — was vorzugsweise im Hunger der Fall, geht so viel NH_3 an der Leber vorbei, daß eine Ammoniakvergiftung eintreten kann. Demgemäß findet man auch im Darmkanal des toten Tieres freies NH_3. Im Dünndarm der obigen Harnstoffkaninchen mit 6,25 mg NH_3-N in 100 g Blut wurden 6,9 mg NH_3-N gefunden. Es darf nicht wundernehmen, daß die Quantität so gering ist, denn nach der Bildung wird sogleich das Ammoniak resorbiert.

Untersuchungen über den Reststickstoff des Blutes.

V. Mitteilung.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem med.-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 16. September 1915.)

Mit 7 Figuren im Text.

In den vorhergehenden Abhandlungen ist das Verhalten des Reststickstoffes im Blute unter verschiedenen physiologischen Bedingungen auseinandergesetzt. Davon ausgehend, können wir zum Studium des Reststickstoffes unter pathologischen Verhältnisseu übergehen. Die Krankheiten, die a priori charakteristische Veränderungen des Reststickstoffes darbieten müssten, sind selbstverständlich die Krankheiten der Niere und der Leber. Beide dürften einen vermehrten Gehalt des Blutes an Reststickstoff aufweisen, wobei die Nierenkrankheiten einen vermehrten Gehalt der Harnstofffraktion, Leberkrankheiten der Aminosäurefraktion besitzen müssten. Für die Nierenkrankheiten ist auch bekanntlich ein oft stark vermehrter Gehalt an Harnstoff als charakteristisches Symptom nachgewiesen worden; wie sich die Leberkrankheiten verhalten, ist noch unbekannt. Da aber im Harn bei gewissen Leberkrankheiten Aminosäuren ausgeschieden werden, und da, wie in der Abhandlung II erwiesen, eine solche Ausscheidung nur dann stattfindet, wenn der Gehalt des Blutes über eine gewisse, gut nachweisbare Grenze ansteigt, darf man mit einiger Wahrscheinlichkeit auch hier einen vermehrten Aminosäuregehalt des Blutes voraussetzen. Im folgenden soll diese Annahme auch bewiesen werden.

Die Untersuchung umfaßt also zwei Abschnitte, wovon

der erste die Bearbeitung der Nierenkrankheiten, der zweite die Leberkrankheiten behandelt. Das Untersuchungsmaterial besteht teils aus experimentell erzeugten Krankheiten, teils aus klinischen Fällen (ausschließlich Nephriten). Da aber die letzteren — übrigens sehr zahlreichen — Fälle aus der hiesigen Universitätsklinik, sowie Epidemiekrankenhaus und Geburtsanstalt, von mir selbst nicht persönlich überwacht und behandelt worden sind, verzichte ich auf ihre Publikation, da ich nur über das Analysenmaterial an sich verfüge. Als Nichtkliniker traue ich mir auch nicht die Beurteilung der Ergebnisse für die Klinik zu, in der Überzeugung, daß die Kliniker mit Hilfe der von mir angegebenen Methoden das Thema besser bearbeiten können. Nur einige allgemeine Folgerungen meiner Analysen werden unten als Ergänzungen angeführt. Zurück bleiben die experimentell, d. h. toxisch erzeugten Nephriten, die von mehreren Gesichtspunkten genau studiert worden sind.

I.

Die Aufgaben, die für das Studium der toxischen Nephriten mittels der Mikromethoden sich darbieten, sind erstens die Entstehung und Verlauf der Retention von Harnbestandteilen, d. h. Harnstoff im Blute, ebensowie das Verhalten der Aminosäurefraktion, und zweitens das Verhalten des Reststickstoffes im Vergleich mit den Veränderungen des Harns, vor allem der Albuminurie. Für das dritte müßte man einem eventuellen Unterschied der verschiedenen toxischen Nephritformen seine Aufmerksamkeit widmen. Und schließlich forderten die früher gefundenen Unterschiede des Reststickstoffgehaltes an wohlernährten und Hungerkaninchen entsprechende einschlägige Versuche an intoxizierten Tieren.

Zur Erzeugung der Nephritis wurde Vergiftung mit Sublimat, Kaliumchromat und Weinsäure angestellt. Diese Intoxikationen bedingen sämtlich eine akute Nephritis, die entweder nach einer schweren Intoxikation zum Tode führt, oder auch bei leichterer Intoxikation mit Genesung endet. Da aber die verschiedenen Intoxikationsformen nicht vollständig übereinstimmen, wird es notwendig sein, jede für sich zu beschreiben.

1. Sublimatnephritis. Bekanntlich bedingt die Sublimatvergiftung eine Albuminurie, die von einer Rest-N-Retention begleitet ist. Spritzt man eine etwas größere Sublimatmenge einem Kaninchen ein, so findet bald eine bedeutende Steigerung des Reststickstoffes und zwar der Harnstofffraktion statt. Ein wohlernährtes Kaninchen, das übrigens unmittelbar vorher ohne hervortretende Symptome eine Vergiftung mit 10 mg Sublimat überstanden hatte, zeigte nach erneuter Vergiftung mit 15 mg Sublimat folgendes Verhalten:

Tabelle I.

	Präformiert	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
Totaler Rest-N	27 mg	62 mg	173–173 mg	238 mg	337 mg	352 mg
Harnstoff-N .	8 „	32 „	151–151 „	205 „	318—308 mg	333 „
Harnmenge .	212 ccm	0	12 ccm	15 ccm	60 ccm	86 ccm
Albuminurie .	0	—	+++	+++	Spur	Spur

Den ersten Tag nach der Vergiftung macht sich die Retention nur unbedeutend geltend, trotzdem sicher die Niere schon stark geschädigt worden ist, wie die Anurie zeigt. Die Ursache hierfür ist wahrscheinlich, daß die Gewebe ebenfalls die retinierten Harnbestandteile aufnehmen. Schon den zweiten Tag ist aber die Retention eine bedeutende und steigt weiter unaufhörlich in die Höhe, um am fünften Tag den außerordentlich hohen Wert von 352 mg zu erreichen. Wie ersichtlich, entspricht diese Steigerung ausschließlich der Harnstofffraktion, während die Aminosäurefraktion unverändert geblieben ist. Eine deutliche Urämie trat nicht ein, das Tier starb den fünften Tag ohne charakteristische Symptome. Ein Vergleich zwischen der Retention und der ausgeschiedenen Harnmenge, sowie der Albuminurie ist recht interessant. Man sollte erwarten, daß zu dem Zeitmoment, wo die Harnsekretion anzusteigen beginnt, die Retention ebenfalls zu sinken anfangen sollte. Das Entgegengesetzte trifft aber ein. Dies ist um so eigentümlicher, als mit der zunehmenden Harnsekretion die Albuminurie ebenfalls stark vermindert wird: der Harn enthällt nur Spuren von Eiweiß. Diese Umstände deuten eine Besserung der Nephritis an, trotzdem aber geht die Steigerung des Reststickstoffes unverändert in die Höhe. Schon aus diesem Versuche läßt sich also für die akute Sublimatnephritis folgern,

daß Retention, Albuminurie und Harnmenge voneinander unabhängig sind. Wir werden auch später sehen, daß umgekehrt eine reichliche Albuminurie ohne Retention bei einer anderen Nephritform vorkommen kann.

Wenn die Retention nach dem Aufhören der Albuminurie fortgeht, liegt die Vermutung vor, daß vielleicht der Nahrungszustand hierfür zum Teil verantwortlich sein kann. Oben wurde ja erwiesen, daß schon die Entziehung der Nahrung am Normaltiere eine Steigerung des Reststickstoffes bewirkt. Und nach einer schweren Vergiftung, wie oben, hören die Tiere auf zu fressen.

Um diese Möglichkeit zu berücksichtigen, wurden spezielle Versuche sowohl an wohlernährten wie Hungerkaninchen angestellt. Da es außer jedem Zweifel steht, daß größere Dosen Sublimat in jedem Falle eine starke Vergiftung bewirken, wurden, um einen eventuellen Unterschied nachweisen zu können, nur kleinere Sublimatmengen injiziert. Dies auch aus dem Grunde, daß die Tiere bei einer geringeren Vergiftung fortwährend fressen, wenn man sie mit Kohlblättern füttert. Schließlich kann man eventuell bei nicht tödlichen Dosen die Entwickelung, Fortdauer und Rückgang der Nephritis besser verfolgen.

Die Versuche an wohlernährten Kaninchen, die subkutan 10 mg Sublimat bekamen, haben das folgende Ergebnis geliefert:

Tabelle II.

	Versuch Nr. 1.		Versuch Nr. 2.		Versuch Nr. 3.	
	Rest-N	$\overset{+}{\text{Ur}}$-N	Rest-N	$\overset{+}{\text{Ur}}$-N	Rest-N	$\overset{+}{\text{Ur}}$-N
Präformiert	27—30 mg	15—15 mg	29—32 mg	8— 9 mg	35 mg	10 mg
1. Tag nach der Vergiftg.	35 mg	14 mg	34—37 „	17—20 „	62 „	40 „
2. „ nach der Vergiftg.	38 „	14 „	35—41 „	20—22 „	27—29 mg	8—12 mg
3. „ nach der Vergiftg.	31 „	12 „	30—32 „	22—34 „		
4. „ nach der Vergiftg.	31 „	12 „	31—32 „	19—16 „		

Wie ersichtlich, bedingt die Intoxikation mit 10 mg Sublimat an wohlernährten Kaninchen von 2500 bis 3000 g Gewicht, die vor und während des Versuches reichliche Nahrung bekommen, entweder gar keine, oder nur eine recht unbedeutende, schnell vorübergehende oder etwas länger dauernde Steigerung

des Reststickstoffes, die übrigens nur die Harnstofffraktion betrifft.

In scharfem Gegensatz hierzu stehen die Versuche an Hungerkaninchen, wie die Tabelle III demonstriert.

Tabelle III.

	Versuch Nr. 1.		Versuch Nr. 2.		Versuch Nr. 3.	
	Rest-N mg	+ Ur-N mg	Rest-N mg	+ Ur-N mg	Rest-N mg	+ Ur-N mg
Präformiert	36–41	16–16	38–41	19–20	43	20–24
1. Tag n. d. Intoxikation	59–67	28–42	76	52	70	48
2. " " " "	137	104	92	76	91	71
3. " " " "	182–184	153–159	—	99	151	131
4. " " " "	202–210	167–179	—	—	—	112
5. " " " "	—	—	—	—	141	121
6. " " " "	—	—	—	—	131	100

Diese Hungertiere zeigen also gegenüber den wohlernährten eine wesentlich erhöhte Steigerung der Harnstofffraktion, die um so mehr in die Augen fällt, als hier nur die Hälfte Sublimatquantität, nämlich 5 mg einverleibt wurde (vgl. auch Kurve I, Versuch Nr. 3). Der Nahrungszustand ist folglich von einem wesentlichen Einfluß für das Zustandekommen der Nierenintoxikation, indem 5 mg Sublimat bei Hunger eine ebenso große Wirkung besitzen, wie 15 mg an wohlernährten Tieren. Wenn oben die Frage aufgerollt wurde, daß vielleicht der Hunger, oder richtiger die Nahrungsverweigerung für die Steigerung verantwortlich wäre, so haben die Versuche der Tabellen II und III also dieser Möglichkeit eine Stütze gegeben. Es wird folglich notwendig sein, das Problem einer näheren Analyse zu unterziehen.

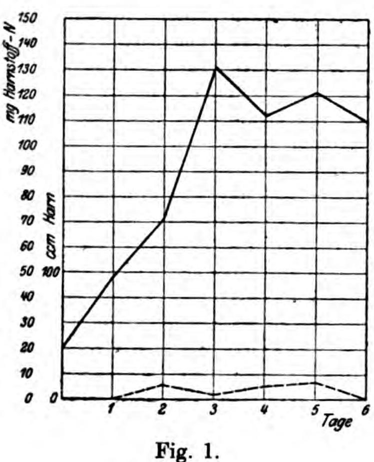


Fig. 1.
5 mg Sublimat.
——— Harnstoff-N.
- - - - - Harn.

Die Frage ist dann: bedingt der Hunger eine intensivere

Wirkung des Sublimats oder führt die Sublimatintoxikation eine stärkere Hungerretention mit sich. Schließlich bleibt die Möglichkeit zu berücksichtigen, daß die Retention eine Summation der Hunger- und Sublimatwirkung darstellt. Und daß die Sublimatvergiftung jedenfalls die Nieren interessiert, geht schon aus der Tatsache hervor, daß Albuminurie vorliegt. Die Albuminurie ist aber andererseits unbedeutend und schnell vorübergehend. In den Versuchen der Tabelle III z. B. trat die größte Steigerung erst dann ein, wenn die Eiweißausscheidung vorüber war.

Bei der Besprechung der reinen Hungerversuche wurde erwiesen, daß die Hungerretention von dem relativen Wassermangel bedingt war. Bei Zufuhr von Wasser blieb die Retention aus. Wenn bei Sublimatvergiftung an Hungertieren eine Retention nach Wasserzufuhr ebenfalls ausbliebe, könnte dies für eine prädominierende Hungerwirkung sprechen. Tabelle IV liefert die Ergebnisse von zwei solchen Versuchen.

Tabelle IV.

	Versuch Nr. 1.				Versuch Nr. 2.			
	Rest-N mg	+ Ur-N mg	Harnmenge ccm	Albumin	Rest-N mg	+ Ur-N mg	Harnmenge ccm	Albumin
Präformiert .	38—41	19—20	0		30—35	16—17	115	0
1. Tag (nach der Intoxikation)	76	52	0		35	20	90	0
2. „	92	76	0		63	39	110	+
3. „	—	99	115	+	49	24	220	0
4. „	102	77	58	Spur	38	18	245	0
5. „	94	74	35	„	abgebrochen.			
6. „	—	100	30	„				
7. „	100	78	17	„				
8. „	100	78	85	0				
9. „	55	30	110	0				
10. „	47	22	63	0				
11. „	30	15	165	0				

In beiden Versuchen wurden 5 mg Sublimat injiziert. Wenn die Versuche schlecht übereinstimmen, indem der eine eine starke, lang dauernde Steigerung, der zweite eine kurz dauernde unbedeutende Erhöhung zeigen, ist dieser Unterschied durch folgendes bedingt. Im Versuch Nr. 1 hatte das Tier zwei Tage gehungert und bekam erst am dritten Tag 100 ccm Wasser und Sublimat. Im Versuch Nr. 2 hungerte das Tier auch zwei Tage

vor der Intoxikation, bekam aber täglich 100 ccm Wasser mit der Sonde, den dritten Tag wurden 5 mg Sublimat injiziert und 100 ccm Wasser gegeben. Sonst stimmten die Versuche überein. Den zweiten Tag nach der Intoxikation bekamen die Tiere nur Wasser, vom dritten Tage ab gewöhnliches Futter (Rüben- und Kohlblätter).

Die Versuche zeigen zunächst, daß die Retention nach Sublimatvergiftung nicht allein oder überwiegend von dem Hunger bedingt sein kann. Die Hungerretention schwindet nach Zufuhr von Wasser, was die Sublimatretention (vgl. Versuch 1) nicht tut.

Sie zeigen, wie außerordentlich wichtig für das Zustandekommen der Nierenschädigung der Wasservorrat des Körpers ist. Bei beschränktem Wasservorrat des Körpers bedingt sogar die Hälfte der Sublimatquantität, die bei wohlernährten Tieren wirkungslos ist, eine starke Vergiftung. Das Verhältnis hängt augenscheinlich mit der Harnabsonderung intim zusammen.

Das Sublimat wird mit dem Harn ausgeschieden, und je mehr Harn abgesondert wird, um so verdünnter passiert das Quecksilber die Niere, und um so geringer ist seine Reizwirkung. Trägt man durch tägliche Wasserzufuhr dafür Sorge, daß die Harnabsonderung — wie im Versuch 2 — reichlich bleibt, kommt keine Vergiftung zustande. Ist aber das Tier schon durch Hunger ohne Wasserzufuhr wasserarm geworden, kann eine folgende Wasserzufuhr gleichzeitig mit der Ver-

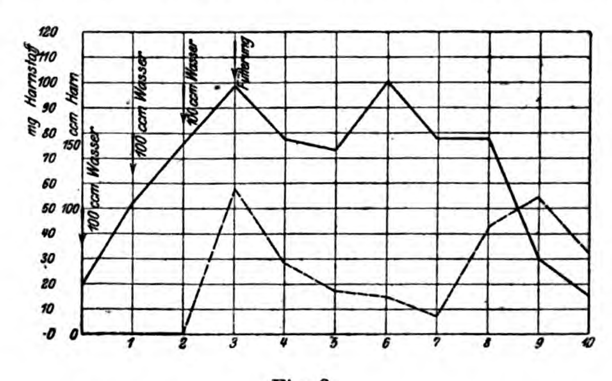


Fig. 2.

5 mg Sublimat. ——— Harnstoff-N. ----- Harn.

giftung die Niere nicht schützen! Die Gewebe saugen alles Wasser auf und für die Niere bleibt nichts übrig, wie auch die fehlende Harnsekretion — Versuch 1 — zeigt, vgl. auch Kurve II. Und ist die Niere einmal geschädigt worden, kann eine folgende reichliche Wasserzufuhr die schon eingetretene Schädigung nicht aufheben.

Die Richtigkeit dieser Interpretation der Versuche wurde noch mehr sichergestellt. Angenommen, daß die fehlende Harnsekretion für die Nierenintoxikation durch Sublimat verantwortlich ist, dürfte man erwarten, daß bei reichlichem Wasservorrat des Körpers auch dann eine Sublimatvergiftung wirkungslos bleiben sollte, wenn gleichzeitig mit der Vergiftung der Hunger anfängt. Das Experiment hat diese Voraussetzung bestätigt. Ein Kaninchen bekam reichliches Futter (Rüben). Die Harnmenge war täglich 400 bis 600 ccm. Am ersten Versuchstag wurden 10 mg Sublimat injiziert, und von diesem Zeitpunkt an hungerte das Kaninchen. Nichtsdestoweniger wurden die ersten 24 Stunden 480 ccm Harn abgesondert. Die folgenden Tage war die Ausscheidung nur 8 ccm bzw. 12 ccm bzw. 8 ccm. Dessenungeachtet waren die Ziffern für Rest-N und Harnstoff des Blutes folgende: 1. Tag 29 bzw. 15 mg, 2. Tag 34 bzw. 18 mg, 3. Tag 49 bzw. 25 mg, 4. Tag 48 bzw. 20 mg, — eine nur unwesentliche Steigerung, die unzweifelhaft dem Hunger und nicht dem Sublimat entsprach. Unmittelbar nach der folgenden Fütterung sanken nämlich die Werte wieder herab: 38 bzw. 21 mg, 19 bzw. 6 mg. Aus diesem Versuche ist erstens ersichtlich, welche Bedeutung dem Wasservorrat des Körpers zukommt. Und zweitens die damit zusammenhängende Harnsekretion. Drittens läßt sich aber die nicht unwichtige Tatsache folgern, daß schon am ersten Tage das Sublimat so weit entfernt ward, daß die folgende starke Beschränkung der Harnsekretion ohne Bedeutung ist, wieder eine Bestätigung von der Bedeutung der Konzentration des Sublimats, das die Niere passiert[1]).

Aus den obigen Versuchen läßt sich weiter die Folgerung

---

[1]) In zwei anderen Versuchen bewirkte dagegen die Injektion von 10 mg Sublimat am wohlernährten Kaninchen mit folgendem dreitägigen Hunger eine bedeutende Retention. Hier war aber schon von Anfang an die Harnsekretion weit weniger ausgiebig.

ziehen, daß die Sublimatlösung, die die Niere passiert, einen gewissen Schwellenwert besitzen muß, um eine Intoxikation der Niere zu bedingen. Dieser Wert läßt sich entweder durch Verminderung der Wassermenge, die die Niere passiert, oder auch durch Vergrößerung der Sublimatmenge (15 mg bedingen auch bei wohlernährten Tieren einer fortlaufenden Ernährung ungeachtet eine Intoxikation siehe oben Tab. I) erreichen.

Schließlich ist aus den Versuchen ersichtlich, daß, wenn einmal das Sublimat die Niere geschädigt hat, man nicht allein durch Ausspülung des Sublimats eine Restitution erreichen kann. Man kann nämlich davon ausgehen, daß das Sublimat, um die Nieren zu schädigen, von den Nierenzellen aufgenommen werden muß, höchstwahrscheinlich als Sublimat-Eiweißverbindungen. Es ist aber ganz klar, daß auch eine subtoxische Sublimatmenge ebenfalls zum Teil von dem Niereneiweiß aufgenommen werden muß; es verteilt sich zwischen dem Harn und dem Niereneiweiß, und je größer die Harnabsonderung, um so geringer bleibt die von dem Niereneiweiß aufgenommene Quantität. Ist einmal dank einer geringen Harnabsonderung eine toxische Sublimatmenge von den Nieren fixiert worden, dann muß eine folgende reichliche Harnsekretion das schon fixierte Sublimat wieder entfernen können. Trotzdem bleibt die Nierenschädigung. Durch seine Verbindung mit dem Niereneiweiß bedingt also das Sublimat eine irreversible Veränderung der Nierenzellen, die, einmal eingetreten, von der Gegenwart der Noxe unabhängig ist.

Eine sehr wichtige Frage ist das Problem, wie sich die Tiere nach eingetretener Nephritis bei Nahrungszufuhr verhalten. Man konnte a priori erwarten, daß das Nahrungseiweiß, das doch rasch in Harnstoff umgebildet wird, eine Steigerung der schon existierenden Retention bedingen muß. Wird schon der im Hunger in geringer Menge gebildete Harnstoff unvollständig ausgeschieden, um so mehr dürfte dann bei reichlicher Harnstoffproduktion zurückbleiben. Auf der anderen Seite bilden doch die Nahrungsstoffe das Material, durch das die Zellregeneration der geschädigten Nierenzellen zustande kommt.

Um einen solchen Einfluß der Ernährung studieren zu können, war es notwendig, nur geringere Quecksilbermengen

zu verwenden. Nach einer schweren Intoxikation, wo die Nierenzellen mehr oder weniger vollständig degenerieren, konnte man a priori diese feineren Einzelheiten nicht erkennen. Die Tiere bekamen deswegen nach einer 2 tägigen Hungerperiode 5 mg Sublimat subcutan und nach folgenden 2 Tagen reichliches Futter, meistens Kohlblätter, was die Tiere trotz der Intoxikation gern fressen. Im Versuch Nr. 2 bekam doch das Tier 2 Tage Hafer, Heu und Wasser, später Kohlblätter. Da die Tiere bei dieser Versuchsanordnung zwar eine recht starke Retention bekommen, aber doch die Intoxikation überleben, hat man hier auch die Möglichkeit, sowohl den Anfang der Nephritis wie den späteren Verlauf bis zur Genesung zu verfolgen und also einen guten Überblick über den ganzen Krankheitsverlauf zu gewinnen. In beiden Versuchen wurden Rest-N und Harnstoff-N des Blutes, sowie die tägliche Harnmenge und die Albuminurie festgestellt.

Tabelle V.

	Versuch Nr. 1.				Versuch Nr. 2[2]).			
	Rest-N mg	+ Ur-N mg	Harn ccm	Alb.-Urie	Rest-N mg	+ Ur-N mg	Harn ccm	Alb.-Urie
Präformiert n. 2 T. Hunger	28–33	16–18	—	—	36–41	16–16	—	—
1. Tag (nach der Intoxikation)	49	33	0	—	59–67	38–42	120	+
2. „	102	74	0	—	159[1])	104	0	—
3. „	150[1])	129	140	++	182–184	153–159	95	+
4. „	169	144	100	+	202–210	167–179	90	Spur
5. „	133	—	215	+	—	151	160	„
6. „	87	52	180	+	276–280	220–236	54	+
7. „	67	51	140	Spur	267–277	222–230	148	Spur
8. „	53	31	210	„	281–285	230–237	156	„
9. „	35	22	240	0	304	256	245	„
10. „	—	—	—	—	323	248	165	„
11. „	—	—	—	—	333	252	156	„
12. „	—	—	—	—	375	—	65	„
13. „	—	—	—	—	353	300	—	—

Wie ersichtlich, zeigen die beiden Tiere eine verschiedene Empfindlichkeit gegen Sublimat. Vielleicht kann dies damit in Verbindung stehen, daß Kaninchen Nr. 2 einige Tage vorher eine Phlorhizininjektion bekommen hatte. Und daß jeden-

[1]) Fütterung.
[2]) Hg-Methode.

falls der zweite Versuch eine Ausnahme bildet, zeigt auch der folgende Versuch, der mit den angeführten durchaus übereinstimmt, nur mit der Ausnahme, daß hier das Tier 10 mg Sublimat bekam.

Tabelle VI.

	Rest.-N. mg	Ur-N mg	Harnmenge ccm	Alb.-Urie
Präformiert	46—46	21	0	—
1. Tag nach d. Vergiftung	36	28	0	—
2. " " " "	92	62	60	++
3.[1] " " " "	124	97	75	++
4. " " " "	—	132	150	+
5. " " " "	160	143	150	Spur
6. " " " "	134	98	175	"
7. " " " "	97	73	205	"
8. " " " "	61	54	115	"
9. " " " "	69	45	52	"
10. " " " "	96	63	102	"
11. " " " "	51	28	115	0
12. " " " "	51	33	80	0
13. " " " "	53	38	0	0
16. " " " "	40	18	225	0

Zur besseren Übersicht sind die Versuche 1 und 3 graphisch wiedergegeben (vgl. die Kurventafel III und IV).

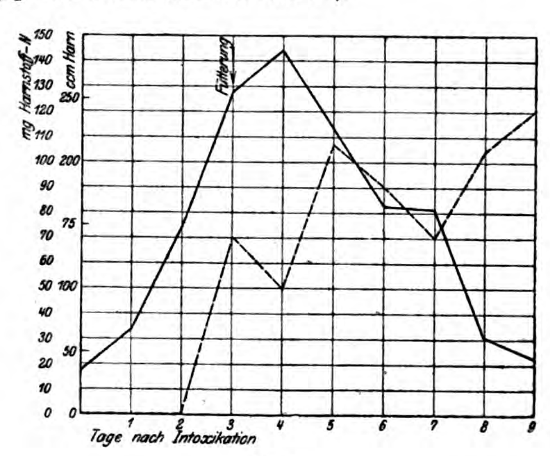


Fig. 3.
5 mg Sublimat. ——— Harnstoff-N. - - - - - Harnmenge.

Aus den Tabellen und Kurven ist ersichtlich, daß nach der Sublimatinjektion der Reststickstoff, und zwar ausschließ-

[1]) Fütterung von jetzt ab.

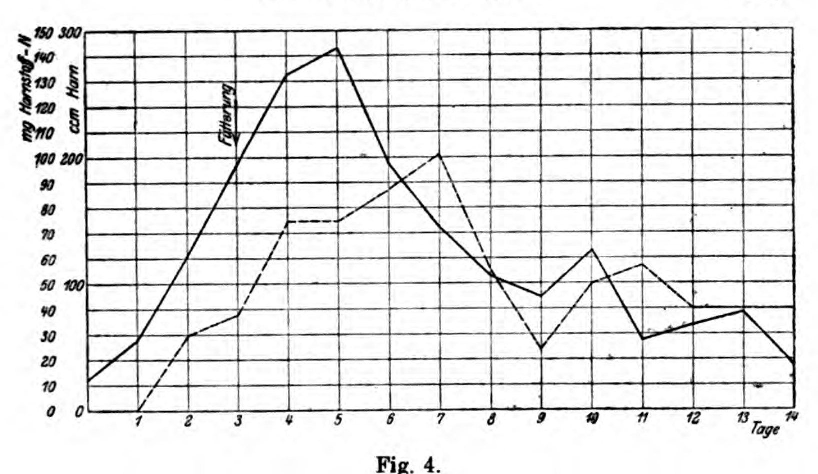


Fig. 4.

10 mg Sublimat. ——— Harnstoff-N. ----- Harnmenge.

lich die Harnstofffraktion, augenblicklich zu steigen anfängt, den ersten Tag langsam, später sehr rasch bis 140 bis 150 mg Harnstoff-N und darüber. Das Blut enthält folglich jetzt etwa 0,3 °/₀ Harnstoff. Es ist weiter ersichtlich, daß die Kurve, nachdem das Maximum erreicht worden ist, eine kurze Zeit hier stehen bleibt, um dann ungefähr ebenso schnell abzusinken, wie ursprünglich zu steigen. Die Kurven besitzen eine unverkennbare Ähnlichkeit mit der früher (II. Mitteilung) wiedergegebenen Kurve der Hungerretention. Allerdings bleibt doch der Unterschied, daß nach Sublimatvergiftung die Steigerung und vor allem das Sinken der Kurve viel langsamer verläuft. In beiden Fällen ist ferner ersichtlich, daß die Nahrungszufuhr ein Absinken der Kurve bedingt. Hier bleibt doch der Unterschied, daß bei Sublimatvergiftung zuerst nach der Nahrungszufuhr eine Steigerung stattfindet, was wahrscheinlich mit der Überschwemmung des Blutes mit dem Harnstoff aus der Nahrung zusammenhängt. Was aber ganz sonderbar bleibt, ist, daß eine kurze Zeit, 1 bis 2 Tage nach der Nahrungszufuhr, trotzdem immer fortwährend Harnstoff neugebildet wird und trotzdem, wie die Eiweißprobe im Harn zeigt, die Nieren noch angegriffen sind, der Harnstoffgehalt des Blutes zu sinken anfängt. Dieses Verhältnis muß damit zusammengehalten werden, daß nach Wasserzufuhr allein, wie Kurve II zeigt, der Harnstoffgehalt trotz der eingetretenen reichlichen Harnsekretion

fortwährend ansteigt. Und weiter, daß bei fortgesetztem Hunger, wie Kurve I zeigt, die Retention unverändert fortgesetzt wird. Die Folgerung aus diesen Beobachtungen kann nur die sein, daß die Nahrungszufuhr an sich eine spezifische Nierenwirkung besitzt, die sich dadurch auszeichnet, daß die Nieren ein größeres Ausscheidungsvermögen für Harnstoff bekommen. Und betrachtet man die Insuffizienz der Harnstoffausscheidung als ein Kriterium der Nierenschädigung — Inflammation oder Degeneration —, so muß eine Restitutio ad integrum in jener Beziehung auch eine kurative Wirkung der Nierenschädigung bedeuten. Das Ergebnis der obigen Versuche bleibt also, daß eine Zufuhr von Nahrung, die wegen der stark vermehrten Harnstoffbildung die kranken Nieren mehr und mehr bedeutend in Anspruch nimmt, tatsächlich eine heilende Wirkung der Intoxikation bedingt. Nun kann man aber kaum erwarten, daß der vermehrte Harnstoffgehalt an sich diese kurative Wirkung besitzen soll. Viel eher kann man die entgegengesetzte Folgerung annehmen. Es liegt auch kein Grund vor, anzunehmen, daß die Aminosäuren des Blutes für diese Wirkung verantwortlich sein sollen. Wie aus den Tabellen ersichtlich, bleibt der Aminosäuregehalt mit und ohne Nahrungszufuhr die ganze Zeit recht unverändert, und die Differenzen sind jedenfalls nicht größer als man sie unter den Versuchsfehlern voraussetzen kann. Es muß folglich noch offen stehen, welcher oder welche Bestandteile der Nahrung für die genannte Wirkung der Nahrung verantwortlich sind. (Die Bearbeitung dieses Problems wird vorbehalten, ebenso wie ausdrücklich bemerkt werden soll, daß die obigen Ergebnisse nur als vorläufige mitgeteilt werden.) Eine Bestätigung für die Folgerung, daß das Sinken der Retentionskurve nicht vom Wasser in erster Linie bedingt ist, bildet der Vergleich zwischen der Harnstoffkurve des Blutes und der Harnmenge. Man findet hier gar nicht mit der Steigerung des Harnstoffes eine Verminderung der Harnausscheidung, sondern im Gegenteil steigt in beiden Versuchen die Harnmenge parallel dem Harnstoff.

Schließlich ist nicht ohne Interesse die Retention des Harnstoffes mit der Albuminurie zu vergleichen. Erstens ist es frappant zu finden, daß die recht große Retention nur von einer unbedeutenden Albuminurie begleitet worden ist. Und

weiter ist ersichtlich, daß in der Regel das Albumin bis auf Spuren zu dem Zeitpunkt zurückgeht, wo der Harnstoff stark in die Höhe steigt. Die Albuminurie und die Retention sind deswegen im großen und ganzen voneinander unabhängig, indem man bei der akuten Sublimatvergiftung nicht von der Albuminurie auf eine Retention und umgekehrt folgen kann. Das entgegengesetzte Verhältnis: starke Albuminurie ohne Retention oder jedenfalls bei einer solchen geringen kommt bei einer anderen Nierenintoxikation vor, nämlich bei der Chromnephritis.

Die Chromnephritis bietet nicht den regelmäßigen Verlauf der Vergiftung und besonders der Retention wie die Sublimatnephritis dar. Verschiedene Tiere reagieren sehr ungleich nach Einverleibung derselben Chromatmenge, selbst wenn der Nahrungszustand, Gewicht und äußere Verhältnisse übereinstimmen. Trotzdem bietet diese Nephritis einige Charakteristika, die konstant vorkommen. Und in anderen Beziehungen stimmt sie mit der Sublimatnephritis recht genau überein.

Zuerst sei bemerkt, daß eine verhältnismäßig große Chromatmenge — **60 mg** — an Kaninchen von 2500 bis 3000 g konstant eine starke Intoxikation bedingt, die von einer kolossalen Albuminurie und bedeutenden Harnstoffretention begleitet ist. Von 2 Versuchen überlebte nur das eine Tier, welches die ganze Zeit mehr oder weniger reichliche Nahrung bekam. Das Versuchsergebnis ist in der Kurventafel V wiedergegeben. Man

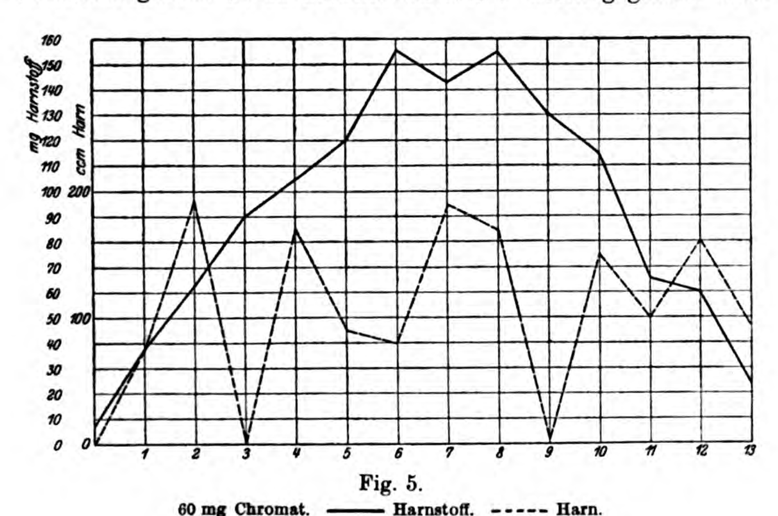


Fig. 5.

60 mg Chromat. ——— Harnstoff. ----- Harn.

bemerkt das langsame, regelmäßige Ansteigen und wiederum rasches Absinken des Harnstoffes, während die Harnausscheidung die ganze Zeit unverändert fortgeht (die 0-Werte am 3. und 9. Tag bedeuten selbstverständlich keine Anurie. Der Harn wurde spontan gelassen). In dem anderen — unvollständig untersuchten — Versuch starb das Tier nach 6 Tagen.

Nach Einverleibung von 30 mg Kaliumchromat in zwei Versuchen verhielten sich die Tiere durchaus verschieden, indem das eine eine ganz bedeutende Retention und starke Albuminurie zeigte, während das zweite weder Albuminurie noch Retention zeigte. Hier lag doch der wesentliche Unterschied vor, daß das erste Kaninchen 2 Tage vor und 2 Tage nach der Vergiftung hungerte, während das zweite Tier die ganze Zeit und außerdem einige Tage vor der Intoxikation eine reichliche, wasserhaltige Nahrung (Kohlblätter) bekam.

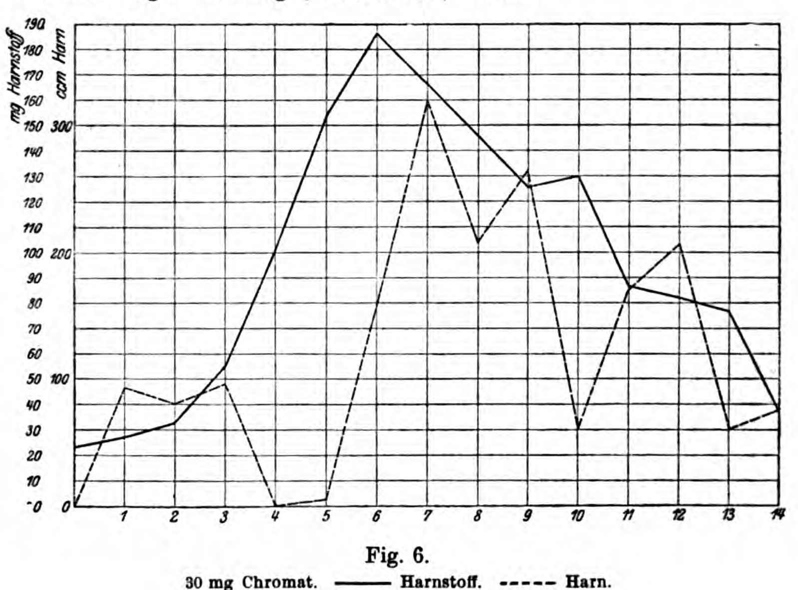


Fig. 6.
30 mg Chromat. ——— Harnstoff. ----- Harn.

Ein Vergleich dieser beiden Versuche macht die Annahme berechtigt, daß ebenso wie bei der Sublimatnephritis der **Nahrungszustand** des Versuchstieres von wesentlicher Bedeutung für die Intoxikation der Niere ist. Der Grund hierfür ist auch — wie schon für die Sublimatnephritis erwiesen — der Wassergehalt, wie gleich unten gezeigt werden soll.

Tabelle VII.

		Versuch Nr. 1.				Versuch Nr. 2.			
		Rest-N mg	$\overset{+}{\text{Ur}}$-N mg	Harn ccm	Alb.-Urie	Rest-N mg	$\overset{+}{\text{Ur}}$-N mg	Harn ccm	Alb.-Urie
Präformiert		44–45	21–25	—	—	28	15	518	0
1. Tag	nach der Intoxikation	48	27	94	+	38	15	510	0
2. „		64	35	80	+++	34	14	460	0
3. „		77	55	95	+++	—	8	655	0
4. „		114	102	0	0	24	8	580	0
5. „		189	155	5	++	—	—	—	0
6. „		198	187	160	+				
7. „		194	167	320	+				
8. „		167	146	215	+				
9. „		155	125	265	+				
10. „		150	130	60	+				
11. „		106	86	170	+				
12. „		106	82	215	+				
13. „		93	77	60	+				
14. „		58	38	78	Spur				
15. „		27	16	160	0				

Aus dem Versuch Nr. 1 geht weiter dieselbe Tatsache wie bei dem 60 mg-Versuch hervor: Die Harnausscheidung bleibt selbst bei großer Albuminurie und Retention unverändert. Und die Retention selbst ist von der Harnausscheldung unabhängig. In dieser Beziehung ist diese Nephritisform von der Sublimatnephritis etwas verschieden, obwohl auch hier ein Parallelismus lange nicht so hervortretend war wie bei der reinen Hungerretention. Wenn die Hungerretention als ein Effekt der konzentrierten Harnausscheidung erklärt werden konnte, kann diese Erklärung hier bei der Chromatnephritis jedenfalls nicht stimmen. Es geht ferner aus diesem Versuche hervor, daß die Retention anfangs, trotzdem die deutliche Albuminurie die Intoxikation der Nieren anzeigt, höchst unbedeutend ist. Es ist auch ersichtlich, daß die maximale Retention zu einem Zeitpunkt eintritt, wo die Albuminurie größtenteils abgeklungen ist. Hieraus läßt sich folgern, daß die Zellelemente, die für die Albuminausscheidung — durch Filtration oder Sekretion — verantwortlich sind, nicht mit denselben identisch sein können, die die Harnstoffausscheidung bedingen. Diese Verhältnisse treten noch deutlicher bei Verwendung von geringeren Chromatmengen hervor, wie die folgenden Versuche zeigen.

Tabelle VIII.

	Versuch Nr. 1.				Versuch Nr. 2.				Versuch Nr. 3.				Versuch Nr. 4.			
	Rest-N mg	+ Ur-N mg	Harn ccm	Alb.-Urie	Rest-N mg	+ Ur-N mg	Harn ccm	Alb.-Urie	Rest-N mg	+ Ur-N mg	Harn ccm	Alb.-Urie	Rest-N mg	+ Ur-N mg	Harn ccm	Alb.-Urie
Präformiert	47—47	24—28	—	—	41—45	24—28	—	—	49—49	26—27	—	—	46—46	26—26	—	—
1. Tag n. d. Intoxikation	49	32	0	—	62	44	0	—	48	28	0	—	43	23	96	0
2. „	69	39	35	+++	86	71	105	+++	47	32	14	+++	38	13	86	+
3. „	82	67	110	++	125	103	12	++	52	37	8	+++	29	9	310	0
4. „	79	63	160	+	171	133	0	—	51	32	5	+	32	8	250	0
5. „	75	60	220	+	166	156	30	+++	50	33	6	—				
6. „	42	31	210	Spur	211	179	0	—	47	33	—	—				
7. „	41	16	225	„												
8. „	37	9	230	„												

Die Kaninchen hatten 2 Tage vor und nach der Intoxikation gehungert. Nr. 4 bekam diese ganze Zeit täglich 100 ccm Wasser mit der Magensonde. Nr. 2 bekam die zwei ersten Tage nach der Intoxikation ebenfalls Wasser. Es fraß später nur wenig und war anscheinend krank vor dem Anfang des Versuches. Das Blut war dunkel und kam nur spärlich. Nr. 3 hungerte 3 Tage nach der Intoxikation und bekam später wenig Nahrung. Nr. 1 bekam den zweiten Tag nach der Vergiftung reichliche Nahrung.

Von den Versuchen interessiert zunächst Nr. 4, der zeigt, daß eine Nierenintoxikation durch eine zwar geringe, aber sonst effektive Chromatquantität so gut wie vollständig durch eine reichliche Versorgung mit Wasser, d. h. eine reichliche Harnsekretion, verhindert werden kann. Andererseits zeigt Versuch Nr. 1, daß ein durch Hunger wasserarm gemachter Organismus mit einer bedeutenden Retention reagiert. In dieser Beziehung stimmen die Sublimat- und Chromatvergiftung überein. Sieht man von dem nicht einwandfreien Versuch Nr. 2 ab, wirkt Versuch Nr. 3 befremdend, in-

dem hier trotz Hunger und später sehr beschränkter Ernährung die Steigerung des Harnstoffgehaltes im Blute nur unbedeutend ist. Daß andererseits die Nieren nicht ungeschädigt geblieben sind, zeigt die sehr starke Albuminurie. Eben dieser Versuch bildet ein sehr überzeugendes Beispiel von der Inkongruenz der Albuminurie und der Retention, was übrigens auch aus Versuch Nr. 4 hervorgeht. Hier tritt eine Albuminurie ein in dem Momente, wo der Harnstoffgehalt des Blutes zu sinken anfängt. Besonders aus Versuch Nr. 1 ist ferner ersichtlich, wie spät nach der Intoxikation die Retention anfängt. Der Harnstoffgehalt bleibt die zwei ersten Tage so gut wie unverändert, trotzdem den zweiten Versuchstag eine reichliche Albuminurie einsetzt; erst den dritten Tag geht die Kurve stark in die Höhe (vgl. Kurventafel VII). In dieser

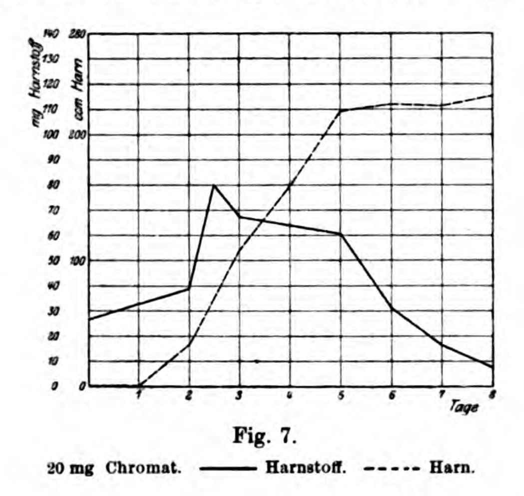


Fig. 7.

20 mg Chromat. ——— Harnstoff. - - - - - Harn.

Beziehung besteht zwischen Sublimat- und Chromatnephritis ein deutlicher Unterschied, indem bei der Sublimatintoxikation die Retention augenblicklich einsetzt. Schließlich zeigt ein Vergleich besonders von den Versuchen Nr. 1 und 3, welche große Inkongruenz zwischen Harnabsonderung und Retention besteht. In Versuch Nr. 1 tritt gleichzeitig mit einer großen Steigerung der Harnabsonderung die Retention ausgesprochen auf. Im Versuch Nr. 3 findet man mit einer sehr geringen Harnsekretion eine unbedeutende Retention, was unmöglich mit der Filtrationstheorie harmoniert.

Tartratnephritis. Nur zwei Versuche sind ausgeführt worden. In beiden wurde 1 g Seignettesalz in 10 g Wasser subcutan injiziert. Der erste Versuch betrifft ein wohlernährtes Tier, das die ganze Versuchszeit reichliche Nahrung bekam; der zweite ein Hungertier, das erst 3 Tage nach der Vergiftung Nahrung und jetzt eine reichliche erhält. Die Versuchsergebnisse sind in der Tabelle IX zusammengestellt.

Tabelle IX.

	Versuch Nr. 1.				Versuch Nr. 2.			
	Rest-N mg	+ Ur-N mg	Harn ccm	Alb.-Urie	Rest-N mg	+ Ur-N mg	Harn ccm	Alb.-Urie
Präformiert	39	17	—	—	36	19	—	—
1. Tag nach der Intoxikation	48	37	160	+	80	66	0	—
2. „	30	14	162	0	99	84	10	+
3. „	40	26	90	0	100	63	220	+
4. „	32	17	310	0	46	31	245	+
5. „	33	9	180	0	33	15	230	Spur
6. „	—	—	—	—	34	14	72	„

Der Unterschied zwischen Hungertieren und wohlernährten ist auch bei dieser Nephritisform zu finden. Soweit man sonst aus den wenigen Versuchen schließen kann, stimmt diese Nephritis besser mit der Sublimat- als mit der Chromatnephritis überein.

Obwohl die obigen Versuche in mehreren Beziehungen unvollständig sind, erlauben sie trotzdem einige allgemeine Schlußfolgerungen. Erstens eine praktische betreffs der Sublimatintoxikation — die Chromatvergiftung kommt weniger in Betracht —. Auch bei der menschlichen Sublimatvergiftung bei Suicidium, Erbrechen usw. ist die Nierenintoxikation ein sehr wichtiges Symptom, das oft das Krankheitsbild dominiert. Die obigen Versuche zeigen außer den schon bekannten Maßregeln, wie Magenspülung usw., eine rationelle kurative Behandlung an: die augenblickliche und reichliche Zufuhr von Wasser, vielleicht auch subcutan oder intravenös, wodurch die Nierenerregung vermindert und wahrscheinlich das Sublimat schneller und ausgiebiger ausgeschieden wird.

Zweitens zeigen die Versuche die große Bedeutung, die der Ernährung der nierenkranken Individuen zukommt, soweit

es die akuten toxischen Nephriten betrifft, obwohl dieser wichtige Punkt besser ausgearbeitet werden muß. Soviel geht aber schon mit Bestimmtheit hervor, daß eine solche Auffassung, daß eine Beschränkung der (eiweißhaltigen) Ernährung eine rationelle Maßregel zur Verminderung der Restretention darstellt, nicht mit den tatsächlichen Verhältnissen übereinstimmt. Als Drittes darf man die Inkongruenz zwischen der Albuminurie und Retention hervorheben. Ebenso wie dies oben für die experimentellen toxischen Nephriten nachgewiesen worden ist, liegt dasselbe Verhältnis bei den menschlichen infektiösen und genuinen Nephriten vor. Es ist bekanntlich schon für die chronische interstitielle Nephritis festgestellt, daß dieselbe, die nur Spuren von Eiweiß mit dem Harn ausscheidet, eine bedeutende Retention aufweist, wie ich auch konstatieren konnte. Andererseits fand ich bei der Amyloidniere eine starke Albuminurie ohne Retention. Ebenfalls findet man bei einigen akuten Nephriten oft eine kolossale Albuminurie ohne Retention.

Ich habe auch Gelegenheit gehabt, eine akute parenchymatöse Nephritis lange Zeit zu verfolgen, die schließlich in eine chronische interstitielle Nephritis überging. Anfangs lag Albuminurie ohne Retention vor, die dann von einer solchen mit recht starker Retention in eine mit nur Spuren von Eiweiß überging. Schließlich liefern die Versuche Material zur Beurteilung der Frage nach dem Ausscheidungsmechanismus des Harnstoffes. Wenn die Retention bei einer beschränkten Harnausscheidung ausbleiben kann und umgekehrt, bei reichlicher Harnausscheidung persistieren und sogar ansteigen, lassen die Tatsachen sich kaum mit der Filtrationstheorie vereinigen. Dagegen sprechen sie bestimmt für die Sekretionstheorie. Wenn z. B. bei der Chromnephritis die Retention anfangs trotz reichlicher Albuminurie ausbleibt, kann dies bedeuten, daß das Chromat erst die Zellelemente, die den Harnstoff sezernieren, erregen und dann später, vielleicht bei sekundärer Degeneration lähmen. Umgekehrt sollte das Sublimat dieselben Zellelemente zuerst angreifen und degenerativ lähmen. Bekanntlich hat man auch — z. B. Suzuki — bei Sublimat und Chromatnephritis verschiedene anatomische Veränderungen der Niere angetroffen. Es wird beabsichtigt, im hiesigen Institut dies Problem mit verfeinerter Technik zu verfolgen.

Die Ergebnisse regen ebenfalls zu Untersuchungen in verschiedenen Richtungen an. Einen besonderen Reiz bietet das Studium der Ödembildung, das wahrscheinlich mit Vorteil von der gegebenen Methodik angegriffen werden konnte. Ohne weiter darauf einzugehen, möchte ich doch schon bemerken, daß die Bestimmung der Trockensubstanz des Blutes während der Sublimatnephritis interessante Eigentümlichkeiten darbietet. So findet man z. B. bei ansteigender Harnausscheidung ein Sinken der Trockenmasse. Dieselbe Erscheinung kommt aber auch sonst bei Nephritis und Hunger vor, während Hunger allein eine Steigerung der Trockensubstanz bedingt — kurz, diese Nephritis — ebenso wie die Chromnephritis — ist von eigentümlichen Störungen des Wasserhaushaltes begleitet, die vielleicht mit dem Ödem in Verbindung stehen.

II.

Die Versuche über das Verhalten des Blutes bei Leberinsuffizienz wurden an phosphorvergifteten Kaninchen angestellt, die das Phosphor in Öl gelöst subcutan bekamen. Die folgenden zwei Versuche zeigen das Ergebnis.

Tabelle X.

	Versuch Nr. 1.			Versuch Nr. 2.		
	Rest-N	+ Ur-N	Amino-säure-N	Rest-N	+ Ur-N	Amino-säure-N
Präformiert . .	26	10—10	16	25—26	8—11	15—17
1. Tag n. d. Intox.	41	11	31	23	17	6
2. „ „ „ „	40	9	31	28	21	14
3. „ „ „ „	27	9	18	88	32	56
4. „ „ „ „	32	12	21	90	28	62

In dem ersten Versuch bekam das Tier 5 mg Phosphor, subcutan als Phosphoröl. Das Tier zeigte keine Krankheitssymptome, und im Harn war keine Vermehrung des Aminosäurestickstoffes zu finden. Trotzdem kommt im Blute eine obwohl unbedeutende Steigerung der Aminosäurefraktion vor. Im zweiten Versuche wurden 10 mg Phosphor einverleibt. Den ersten und zweiten Versuchstag war das Kaninchen anscheinend normal, was auch die Blutuntersuchung anzeigt. Erst den dritten Tag setzt die Phosphorwirkung ein, was eine recht be-

deutende Steigerung der Aminosäurefraktion des Blutes zur Folge hat. Weiter findet man auch eine geringere Steigerung der Harnstofffraktion, was sicher mit einer Phosphordegeneration der Niere in Verbindung steht, was die jetzt auftretende Albuminurie beweist. Der folgende Tag setzt diesen Zustand fort; außerdem wurden 140 mg Aminosäure-N mit dem Harn ausgeschieden. Den dritten und vierten Tag sah das Tier sehr angegriffen aus. Es weigerte sich Nahrung aufzunehmen. Trotz der Nahrungsverweigerung entwickelt sich also die Steigerung des Aminosäuregehaltes im Blute. Diese neugebildeten Aminosäuren können kaum ausschließlich von der früheren Nahrung herstammen. Wahrscheinlich sind sie jedenfalls zum Teil bei der Leberautolyse gebildet. Daß sie jedenfalls einer Leberinsuffizienz entsprechen, zeigt die Todesursache des Tieres. Den letzten Tag bekam das Tier zuerst unbedeutende klonische Zuckungen, die von einem typischen Opisthotonus abgelöst wurden. Augenblicklich nachher starb das Tier. Eine Untersuchung des Blutes zeigte einen Ammoniakgehalt des Blutes von 3,6 mg in 100 g Blut.

Es wurde oben — Abhandlung III — erwiesen, daß eine ähnliche Ammoniakkonzentration des Blutes genügt, um Opisthotonus auszulösen. Es kann folglich kein Zweifel darüber sein, daß in diesem Falle das Kaninchen an einer Ammoniakintoxikation gestorben ist. Das Auftreten der Ammoniakämie kann entweder von einer Resorption des Ammoniaks aus dem Darme oder von der Desamidierung der Aminosäuren in der Leber bedingt sein. Im letztgenannten Falle dürfte also die Desamidierung, nicht aber die Harnstoffsynthese normal funktionieren. Die starke Steigerung der Aminosäurefraktion im Blute spricht doch eher dafür, daß eine Desamidierung der Aminosäuren auch herabgesetzt ist, und daß folglich das Ammoniak eher vom Darm herstammt. Jedenfalls beweist der Versuch, daß eine Phosphordegeneration der Leber eine starke Insuffizienz der Harnstoffsynthese bedingen kann, die den Tod unter urämischen Symptomen herbeiführen muß. Daß eine starke Säurebildung — vor allem von Milchsäuren — für die Ammoniakbildung verantwortlich sein sollte, ist dagegen recht unwahrscheinlich. Erstens wissen wir doch. daß selbst die kolossale Acidose beim Diabetes nicht zur Ammoniakurämie führt, und

zweitens zeichnet sich das Kaninchen gegenüber Hund und Mensch dadurch aus, daß es nicht eine Säurevergiftung mit Ammoniak zu paralysieren vermag.

Die Tatsache, daß die Lebervergiftung eine den Symptomen nach typische Urämie bewirken kann, besitzt ein nicht geringes Interesse. Bekanntlich hat man seinerzeit die Urämie als eine Ammoniakvergiftung zu erklären versucht. Die Analysen haben jedoch dieser Hypothese keine Stütze gegeben. Einige Ammoniakbestimmungen des Blutes bei schwer von Sublimat intoxierten Kaninchen mit großer Retention zeigten auch einen durchaus normalen Ammoniakgehalt des Blutes. Allerdings haben diese Tiere keine urämischen Symptome gezeigt.

Andererseits ist es jedoch bekannt, daß bei gewissen als urämische Eklampsien bezeichneten Krankheitsformen schwere Leberdegenerationen vorliegen. Dies ist besonders bei Eclampsia gravidarum der Fall. Es bleibt deswegen die Möglichkeit noch offen, daß in gewissen von schweren Leberdegenerationen begleiteten Urämieformen die Eklampsie einer Ammoniakvergiftung entsprechen kann. Diese Möglichkeit findet in dem oben angeführten Versuche eine wesentliche Stütze.

Zur Ernährungsphysiologie landwirtschaftlicher Nutztiere, besonders des Rindes.

Von

Wilhelm Klein.

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule in Berlin.)

(Eingegangen am 15. August 1914.)

Mit 2 Figuren im Text.

I. Leitende Gesichtspunkte und Kritik der früheren Arbeiten.

Bis zum Jahre 1910, wo die im nachstehenden beschriebenen Versuche begannen, begnügten sich die Forscher, die sich mit Stoff- und Energieumsatz des Wiederkäuers, speziell des Rindes, beschäftigten, mit der Bestimmung der Kohlensäure- und Methanausscheidung nach dem Pettenkoferschen Prinzip. So haben Henneberg und Stohmann[1]), Kühn[2]) Kellner[3]) in ihren grundlegenden Versuchen über die Ernährung der Wiederkäuer diese Methode angewandt.

Die im Respirationsapparat gefundene Gesamtkohlensäure, die vom Wiederkäuer ausgeschieden wird, setzt sich aus zwei Größen zusammen, die für den Stoffwechsel sehr verschiedene Bedeutung haben, nämlich:

1. aus der durch Verbrennung der kohlenstoffhaltigen Substanzen im Tierkörper entstandenen, dem Energieumsatz der Gewebe entsprechenden Kohlensäure;

2. aus der durch die Gärung in dem komplizierten Magen- und Darmtraktus der Wiederkäuer entstehenden Menge.

---

[1]) Henneberg und Stohmann, Beiträge zur Gründung einer rationellen Fütterung der Wiederkäuer 1864, 2. Heft.

[2]) Gustav Kühn, Arbeiten aus der Hinterlassenschaft von Prof. Dr. . . . . Landwirtschaftl. Vers.-Stat. 44, spez. S. 257 bis 581.

[3]) O. Kellner, Die Ernährung der landwirtschaftlichen Nutztiere. Berlin 1913. 4. Aufl.

Der ca. 80 kg betragende Panseninhalt, der sich aus Anteilen mehrerer Tagesrationen zusammensetzt, ist eine einzige, in immerwährender Gärung begriffene Masse. Bei dieser Gärung werden neben verschiedenen organischen Säuren (Milch-, Essigsäure und ihren Homologen bis zur Valeriansäure), auch Alkohol, und besonders Kohlensäure, Methan und Wasserstoff gebildet. Eine andere sich zu dieser Gärkohlensäure addierende Kohlensäurequelle, die mit dem Energieumsatz des Körpers nur in sehr indirektem Zusammenhang steht, fließt aus dem, ich möchte sagen, Carbonatkreislauf beim Wiederkäuer. Mit dem Speichel wird eine große Menge von Carbonaten (ca. 300 g Soda pro Tag entsprechend) in den Pansen ergossen. Die bei der Gärung entstehenden flüchtigen Säuren treiben die Kohlensäure aus. Die entstandenen Seifen werden in den folgenden Darmabschnitten resorbiert, und in den Geweben gelangen die organischen Säuren zur Verbrennung, wobei wieder Carbonate gebildet werden, die durch die Speicheldrüse abermals ausgeschieden werden. Waren auch die Grundlagen dieser Anschauungen schon früher bekannt, so wurden sie doch bei den Stoffwechselversuchen gar nicht oder zu wenig berücksichtigt. Erst die in der letzten Zeit veröffentlichten Versuche von Markoff[1]) haben über diese Vorgänge Klarheit geschaffen.

Die Frage, auf die es den früheren Forschern hauptsächlich ankam: Wieviel bleibt von dem in der Nahrung den Wiederkäuern zugeführten Kohlenstoff im Körper zurück? konnte durch die Kenntnis der Kohlenstoffmenge in den festen, flüssigen und gasförmigen Ausscheidungen gelöst werden. Da angenommen wurde, daß aller zurückgebliebene Kohlenstoff, nach Abzug für das aus dem Stickstoffansatz berechnete neugebildete Muskelfleisch, in Fett umgebildet wird, so konnte man das sogenannte Fettbildungsvermögen eines Futtermittels und ganzer Futtermischungen bestimmen, eine Berechnung, deren Resultate bekanntlich Kellner in seinen „Stärkewerten" zum Ausdruck gebracht hat.

Über den Energieumsatz des Körpers selbst sagten diese Versuche noch nichts aus. Deswegen mußte zum Studium des

[1]) Markoff, Fortgesetzte Untersuchungen über die Gärungsprozesse bei der Verdauung der Wiederkäuer und des Schweines. Diese Zeitschr. 57, Heft 1/2, 1913.

Energieaufwandes des Rindes bei verschiedenen Lebensäußerungen, wie Liegen, Stehen, Futteraufnahme, Gehen und anderen Arbeitsleistungen, ferner der Wirkung verschiedener Futtermittel auf den Stoffwechsel (spezifische Wirkung) eine andere, von den Gärvorgängen unabhängige Größe eingeführt werden. Bis jetzt besitzen wir keine Methode, die eine vollkommene Trennung des Bakterienstoffwechsels von dem des Tieres gestattet. Da jedoch die bakteriellen Vorgänge so gut wie vollkommen anaërob verlaufen, darf man annehmen, daß der Sauerstoffverbrauch sich fast ausschließlich in den Organen des Tieres vollzieht. Außerdem ermöglicht die Bestimmung des Sauerstoffverbrauches eine wesentlich genauere Messung der wahren Energieproduktion, als dies durch die Kohlenstoffbilanz allein möglich ist. Wissen wir doch, daß der calorische Wert der gebildeten Kohlensäure auch bei vollständiger Verbrennung der verschiedenen Nährstoffe in sehr weiten Grenzen schwankt [vgl. N. Zuntz und A. Löwy[1]), Lehrbuch d. Physiol. des Menschen, S. 650]. Ich erinnere nur daran, daß von den drei Hauptnährstoffen:

Kohlenhydrat	pro 1 l	gebildeter	CO_2	= 5043 Cal
Fett	„ 1 l	„	CO_2	= 6575 „

liefern.

Von den bei der Gärung enstehenden Stoffen liefern:

Essigsäure	pro 1 l	gebildeter	CO_2	= 4681 Cal
Buttersäure	„ 1 l	„	CO_2	= 5809 „
Alkohol	„ 1 l	„	CO_2	= 7265 „

Die aus diesen Zahlen ersichtliche Unsicherheit der indirekten Berechnung der Wärmeproduktion aus dem Stoffwechsel fällt weg bei der direkten Bestimmung der Wärmeabgabe im Calorimeter. Dieser Methode bedienten sich Armsby[2]) und Hagemann[3]). Bei kleinen, leicht durch Dressur in einem absolut ruhigen Zustand verharrenden Tieren, wie z. B. dem

[1]) Zuntz-Löwy, Physiologie des Menschen. Lehrbuch 2. Aufl. Berlin 1913.

[2]) H. P. Armsby und A. Fries, Die nutzbare Energie des Timothyheues. Landw. Jahrb. 1904.

[3]) O. Hagemann, Das Respirationscalorimeter in Bonn und einige Untersuchungen mit demselben bei zwei Rindern und einem Pferde. Ebenda 41, Erg.-Bd. I.

Hund, oder dem sich durch den Willen zur Ruhe zwingenden Menschen hat sich das Calorimeter ausgezeichnet bewährt (Rubner, Atwater, Benedikt) und sehr exakte Resultate ergeben. Dagegen hat sich im Laufe der letzten Jahre wohl herausgestellt, daß die Handhabung des Calorimeters für große Tiere, besonders Wiederkäuer, durch die rasch wechselnden Lebensäußerungen, wie Liegen und Stehen, Wiederkauen und nicht Wiederkauen, sehr schwierig wird. Aber auch diese Bestimmung der Wärmeabgabe läßt uns darüber im dunkeln, welche Anteile dem Stoffwechsel des Tieres und welche den Gärungsprozessen zukommen.

In dieser Beziehung steht die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs günstiger: denn da die Gärungsprozesse, wie schon erwähnt, anoxybiotisch sind, vollzieht sich der O_2-Verbrauch nur in den Geweben des Tieres. Allerdings aber an einem Material, dessen Zusammensetzung wir nur unvollkommen kennen, da neben Eiweiß, Fett und Kohlenhydraten auch die Gärprodukte (flüchtige Fettsäuren, Oxysäuren, Alkohole) im Organismus oxydiert werden. Trotzdem bringt uns die Kenntnis des Sauerstoffverbrauchs dem wahren Energieumsatz im Tierkörper wesentlich näher. Das erhellt aus folgender Zusammenstellung der einem 1 O_2 bei Verbrennung der verschiedenen in Betracht kommenden Nährstoffe entsprechenden Wärmebildung:

Fett	4622 Cal
Kohlenhydrat	4976 „
Essigsäure	4681 Cal
Buttersäure	4669 „
Alkohol	4873 „

Aus diesen Zahlen geht hervor, daß bei der Oxydation organischer Verbindungen für 1 l verbrauchten Sauerstoffs eine Wärmemenge frei wird, die bei den verschiedensten Stoffen nur geringe Schwankungen zeigt, während der calorische Wert der Kohlensäurebildung, wie S. 171 gezeigt, weit auseinanderliegende Größen ergibt. Einer besonderen Betrachtung bedarf der Eiweißumsatz wegen der großen Menge unverbrannter organischer Verbindungen, die beim Wiederkäuer in den Harn übergehen. Würde man alle diese Substanzen als Reste des Eiweißabbaues ansehen, wie das beim Omnivoren und Fleisch-

fresser, wenn auch nicht ganz richtig, doch üblich ist, so würde man diesen Abbau ganz falsch beurteilen. Hierauf näher einzugehen, liegt nicht im Bereich meiner Aufgabe. Es ist aber wichtig, den brennbaren Bestandteilen im Harn ebenfalls Rechnung zu tragen.

So dürfte wohl in Zukunft bei der Untersuchung des Stoff- und Energieumsatzes unserer großen Haustiere der zweite Weg — die indirekte Calorimetrie durch Bestimmung der Sauerstoffaufnahme neben der Kohlensäureausscheidung — der aussichtsreichste sein, zumal wenn die Methode der direkten Bestimmung des Sauerstoffverbrauches bei der Verbrennung der Nahrungsmittel und der Ausscheidungen noch verfeinert wird, woran in unserem Institut andauernd gearbeitet wird[1]).

Die Untersuchungen des Gaswechsels basieren entweder auf dem Zuntzschen Prinzip der direkten Messung der Lungenatmung oder dem Regnault-Reiset-Prinzip der Atmung in einem abgeschlossenen Tierbehälter. Die methodische Beschreibung kann ich hier unterlassen, wenn ich auch bei Besprechung meiner späteren Versuche kurz darauf eingehen muß.

Die ersten derartigen Versuche sind, wenn wir von den zahlreichen Versuchen am Menschen absehen, die bekannten Untersuchungen von Zuntz, Lehmann, Hagemann[2]) am Pferd nach der Zuntzschen Methode. Hagemanns[3]) Versuche und die Ustjanzews[4]) am Schaf gehören ebenfalls hierher. Das gleiche Prinzip wurde auch von Pächtner[5]) angewandt bei Kälbern, ebenso von Dahm[6]). Das Regnault-Reiset-Prinzip

---

[1]) Seit kurzem ist es gelungen, diese von Zuntz stammende Methode zu einer sehr exakten und wenig Zeit in Anspruch nehmenden Arbeitsmethode auszubauen. Darüber wird an anderer Stelle berichtet.

[2]) Zuntz-Lehmann-Hagemann, Untersuchungen über den Stoffwechsel des Pferdes bei Ruhe und Arbeit. Landw. Jahrb. 17 u. 18.

[3]) O. Hagemann, Beitrag zur Lehre vom Stoffwechsel der Wiederkäuer. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1899 Suppl.

[4]) W. Ustjanzew, Die energetischen Äquivalente der Verdauungsarbeit bei den Wiederkäuern (Schafen). Diese Zeitschr. 37, 457, 1911.

[5]) Johannes Pächtner, Respiratorische Stoffwechselforschung und ihre Bedeutung für Nutztierhaltung und Tierheilkunde. Mit einem Beitrage zur Kenntnis vom Lungengaswechsel des Rindes. Berlin 1909, R. Schötz.

[6]) Carl Dahm, Die Bedeutung des mechanischen Teiles der Verdauungsarbeit für den Stoffwechsel des Rindes. Diese Zeitschr. 28, Heft 5/6, S. 456 bis 504, 1910.

liegt den zahlreichen, in den letzten 3 Jahren im tierphysiologischen Institut ausgeführten und zum Teil veröffentlichten Untersuchungen zugrunde[1]). Da meine Versuche sich zum Teil in der gleichen Richtung wie die von Pächtner und Dahm bewegen, so muß ich auf deren Arbeiten kurz eingehen. Die Pächtners zerfällt in zwei Abschnitte, in einen kritisch historischen über die Entwicklung und Bedeutung respiratorischer Stoffwechselarbeiten und einen experimentellen Teil, worin besonders der Einfluß verschiedener Lebensäußerungen, wie Kauen und Wiederkauen, auf den Energieumsatz untersucht wird. Der Einfluß des Liegens ist nicht weiter berücksichtigt, doch finden sich in den Protokollen hierauf bezügliche Versuche, die ich später noch anführen werde.

Der schönen experimentellen Arbeit Dahms liegt neben zwei vollständig durchgeführten Ausnützungsversuchen und neben den Untersuchungen über die Größe der Kau- und Wiederkauarbeit die Fragestellung zugrunde, ob auch beim Wiederkäuer der Mehrgehalt einer Ration an ballastreichem Futter, also die mechanische Belastung des Magendarmtraktus, eine den Energieumsatz steigernde Wirkung besitzt. Über die Wirkung des Liegens und Stehens geben nur zwei unter sich vergleichbare Versuche Aufschluß. Auf diesen Mangel komme ich nochmals zurück.

Dahm vergleicht zwei Versuchsreihen, die beinahe gleiche Mengen verdauter Nährstoffe liefern: eine an Getreideschrot reiche und rauhfutterarme mit einer rauhfutterreichen, aber schrotarmen.

Um die Größe des Energieumsatzes zu bestimmen, wird der respiratorische Gaswechsel über 24 Stunden in jeder Reihe untersucht. Zu diesem Zwecke wurde alle 2 Stunden ein etwa

[1]) Dr. R. von der Heide, Tierarzt Klein und Prof. Dr. Zuntz, Respirations- und Stoffwechselversuche am Rinde über den Nährwert der Kartoffelschlempe und ihrer Ausgangsmaterialien. Landw. Jahrb. **1913**. — Prof. N. Zuntz, Dr. R. von der Heide, Tierarzt Klein, Zum Studium der Respiration und des Stoffwechsels der Wiederkäuer. Landw. Versuchsstationen **1913**. — N. Zuntz, Die Beziehungen der Mikroorganismen zur Verdauung. Die Naturwissenschaften **1913**, Heft 1. — Derselbe, Neuere Forschungen, betreffend die Verfütterung zuckerhaltiger Nährmittel. Vortrag. Zeitschr. des Vereins d. deutsch. Zuckerind. **64**, 1914.

$^1/_2$ stündiger Respirationsversuch angestellt, in dem die Sauerstoffaufnahme und Kohlensäureabgabe bestimmt wurden. Aus dem daraus berechneten Verbrauch pro Kilogramm und Minute wurde der 24-Stundenwert berechnet. In Dahms Versuchen kam wechselndes Verhalten des Tieres zur Beobachtung, indem die Versuche zur vorausbestimmten Zeit begonnen wurden, einerlei ob das Tier lag oder stand, ob es wiederkaute oder nicht; stets wurde aber darauf geachtet, daß es sich möglichst ruhig verhielt. Aus den vorher für das Wiederkauen, Stehen und Liegen gewonnenen Werten und aus der beobachteten Gesamtzeit dafür reduziert er dann die Resultate der beiden Reihen auf das stehende Tier, um so die Möglichkeit zu schaffen, beide Reihen gut vergleichen zu können. Auf diesem an und für sich richtigen Wege kommt dann Dahm zu dem Schlusse, daß durch die mechanische Beschaffenheit des Futters die Verdauungsarbeit und damit der Energieaufwand erheblich gesteigert wird, und zwar um 21,3 $^0/_0$, so daß pro 1 g Cellulose der Nahrung 0,5 Cal mechanischer Verdauungsarbeit bedingt würden. Dieser Wert ist zwar etwa 4 mal kleiner als der Einfluß der Cellulose auf den Stoffwechsel des Pferdes, wie ihn Zuntz und Hagemann gefunden und Hagemann durch seine Versuche im Respirationscalorimeter bestätigt hat. Immerhin erscheint er hoch, wenn man bedenkt, daß beim Rinde die Hauptleistung bei der Verdauung und Zersetzung der Cellulose sich ohne mechanische Arbeit durch die Gärvorgänge in den Vormägen vollzieht. Diese Überlegung hat mich nun nicht nur zur nochmaligen experimentellen Nachprüfung dieser Untersuchungen auf anderen Wegen, sondern auch zu einem sehr eingehenden kritischen Studium der Dahmschen Arbeit veranlaßt. Da Dahm nun die einzelnen Respirationsversuche sehr sorgfältig angestellt hatte, so konnte, wenn eine unrichtige Schlußfolgerung vorlag, dieser Fehler nur auf der Gruppierung der zu vergleichenden Versuche und der daraus resultierenden Berechnung des 24-Stundenverbrauches in der einen oder anderen Versuchsreihe beruhen.

Beim Studium der Versuchsprotokolle fällt nun auf, daß zur Berechnung des 24 stündigen Energieumsatzes in der ballast-(rohfaser)armen Periode beinahe lauter Liegeversuche, in den Versuchen mit viel Rohfaser meist Versuche am stehenden

Tier benutzt wurden. Zahlenmäßig drückt sich dies so aus: Von 290 Versuchsminuten der schrotreichen rohfaserarmen Periode liegt das Tier 193 Minuten = 67 %, in der rohfaserreichen Periode, in der zwei Versuche von je 24 Stunden Dauer ausgeführt wurden, beim ersten von 246 Versuchsminuten nur 63 = 25 %, beim zweiten überhaupt nicht. Da nun Dahm beim Vergleich der zwei Perioden den Energieumsatz für 24 Stunden auf das stehende Tier bezieht, so ist bei der Konstellation der Respirationsversuche klar, daß die Größe der entsprechend korrigierten Werte von dem Faktor abhängt, der für die Steigerung durch das Stehen gegenüber dem Liegen angenommen wird.

Dahm gibt nun eine Steigerung von 8 % an. Er stützt sich wohl wesentlich auf den Vergleich der Versuche 14, 15 und 17 seines Versuchsprotokolls im Liegen, die im Mittel einen Minutenverbrauch von 1123 ccm O_2 resp. 23,0 Cal ergaben; ihm gegenüber unter ganz gleichen Bedingungen hatte Versuch 16 beim stehenden Tier 1258 ccm (O_2) Verbrauch resp. 25,5 Cal. Da während eines Viertels der Versuchszeit wiedergekaut wurde, so ist hier der Wert um 3,3 % zu verkleinern auf 1220 ccm Sauerstoffverbrauch, resp. 24,65 Cal. Es würde demgemäß das Stehen den Sauerstoffverbrauch um 97 ccm = 8,6 % und den Energieverbrauch um 1,65 Cal = 7,2 % steigern. Wir finden aber in Dahms Versuchsprotokollen andere Vergleichsdaten, in denen der Effekt des Stehens höher ist. Besonders erwähnenswert sind hier die Versuche 61 und 62, die der Rauhfutterperiode angehören, und die zwei Monate später als die vorher erwähnten Versuche angestellt waren. In den Versuchen 61 und 62 sind die Ernährungsbedingungen identisch, da das Tier seit mehr als 12 Stunden nüchtern war und irgendwelche Unruhe nicht bemerkt wurde. Das Tier hat nun in Versuch 61 84 %, in Versuch 62 32 % der ganzen Versuchszeit wiedergekaut. Rechnen wir hierfür eine steigernde Wirkung von 14 %, so haben wir reduziert auf gleiche Dauer des Wiederkauens (32 %) für Versuch 61 einen Sauerstoffverbrauch von 1177 ccm; für Versuch 62 einen solchen von 1021 ccm. Die Differenz beträgt 156 ccm und ist darauf zurückzuführen, daß in Versuch 61 das Tier 79 % der ganzen Zeit, in Versuch 62 nur 16 % derselben stand. Ein Mehrstehen von 63 % der

ganzen Versuchszeit erhöht also den Verbrauch einer Minute um 156 ccm, ein Stehen während der ganzen Zeit um 247 ccm, das sind 24,2 % des Liegewertes. Also ein 3mal höherer Wert, als ihn Dahm bei dem früher besprochenen Versuch berechnet hatte. So dürfte also die Dahmsche Zahl den Minimalwert darstellen. Armsby findet nun in zahlreichen Versuchen an Ochsen einen durchschnittlichen Unterschied von 30 % zwischen Stehen und Liegen. Ich habe aus Versuchsprotokollen Pächtners bei Kälbern beim Vergleich von liegenden und stehenden Tieren eine Steigerung von 8 bis 16 % berechnet. Nur die Stehversuche bei denen ausdrücklich absolute Ruhe verzeichnet war (Versuch 15, 17, 18) wurden berücksichtigt Das Versuchstier stand dabei im Stall auf Strohstreu.

Über die beiden 24-Stundenversuche Dahms bei Rauhfutter ist noch folgendes zu vermerken: sie unterscheiden sich voneinander dadurch, daß in der zweiten Reihe das Tier erheblich schwerer ist, das Gewicht war von 259 auf 298 kg gestiegen. Die erhebliche Differenz im Minutenverbrauch (erste Reihe, im Mittel 1154,4 ccm Sauerstoff gegen 1437,4 ccm = 24,5 % mehr in der zweiten Reihe) erklärt sich zum großen Teil, aber nicht vollständig, aus der Gewichtszunahme, zu einem weiteren Teil daraus, daß das Tier in der ersten Reihe mehr lag wie in der zweiten. Der Effekt des höheren Gewichtes wird, wenn auch nicht ganz richtig, eliminiert, wenn wir die Werte pro 1 kg berechnen. Wir haben dann im Mittel der 12 Versuche der ersten Reihe 4,45 ccm Sauerstoff pro Minute, im Mittel der zweiten Reihe 4,825 ccm. Das Plus beträgt also nur noch 8,4 %. Im ganzen wurde in der ersten Periode von 246 Versuchsminuten 121, in der zweiten von 183 Minuten 82 Minuten wiedergekaut. Das macht im ersteren Falle 49 %, im zweiten 45 % der ganzen Dauer.

Für diese geringe Differenz erscheint eine Korrektur überflüssig. So wäre also das Plus zunächst darauf zu beziehen, daß das Tier in der ersten Reihe 63 Minuten von 246 Versuchsminuten gelegen hat, während es in der zweiten andauernd stand. Es kämen also, wenn $^{63}/_{246}$ der ganzen Zeit gestanden wird, 0,375 ccm Mehrverbrauch pro Minute, also wenn die

ganze Zeit gestanden wird, auf eine Minute Stehen = 1,464 ccm = 48,8 % Steigerung. Eigentlich müßten die beiden Werte auf gleiche Oberflächen bezogen werden, was die Differenz zwischen Liegen und Stehen noch erhöhen würde. Es kann also der Unterschied der beiden Reihen bei Rohfaserfütterung durch den Unterschied in der Muskeltätigkeit, d. h. durch längeres Stehen allein nicht erklärt werden, auch dann nicht, wenn man die höheren Werte von Armsby für das Stehen zugrunde legt. Andererseits wird man aber den Mehrverbrauch für Stehen nicht so niedrig veranschlagen dürfen, wie es Dahm seinerzeit getan hatte. Es würde sich aber mit einem höheren Zuschlag für Stehen der 24-Stundenverbrauch in der Schrotperiode ebenfalls erhöhen, der Unterschied gegenüber dem Verbrauch in der rohfaserreichen Periode und damit der Aufwand für die mechanische Verdauungsarbeit sich erniedrigen. Es würde eine Erhöhung um 4 bis 6 % genügen, d. h. eine Einschätzung des Mehraufwandes für Stehen auf 12 bis 14 %, um beinahe den gleichen Energieverbrauch in beiden Perioden zu bekommen.

Bei der Wichtigkeit der Werte des Stehens und Liegens, des Wiederkauens und nicht Wiederkauens in Versuchen, in denen der Energieumsatz unserer großen Haustiere bei doch immer wechselndem Verhalten verglichen werden soll, verlohnt es sich wohl, die früher gefundenen Werte nachzuprüfen und speziell den Unterschied zwischen stehendem und liegendem Tier nochmals zu studieren. Außerdem habe ich in dieser Arbeit untersucht, inwieweit die drei gebräuchlichen Methoden (Regnault-Reiset verbessert von Zuntz, Pettenkofer-Tigerstedt und Zuntz) bei Versuchen an großen Wiederkäuern zu vergleichbaren Werten führen. Ferner liefern die Versuche einen Beitrag zu der Frage, ob die Kastration den Energiewechsel des Wiederkäuers beeinflußt.

II. Respirationsversuche bei Trachealatmung.

Kanülenversuche nach dem Zuntzschen Prinzip.

Zu meinen Versuchen stand mir das bereits von Dahm benutzte Tier zur Verfügung. Am 10. XII. 1910 wurde der Bulle im Alter von $2^1/_4$ Jahren, nachdem vorher die Dimen-

sionen des Körpers und sein respiratorischer Gaswechsel nach Pettenkofer bestimmt worden war, von mir kastriert. Die Operation wurde am stehenden Tier vorgenommen und verlief glatt und ohne Komplikationen. In den Februar und März 1911 fallen die nachfolgenden Versuche. Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei den bereits veröffentlichten Arbeitsversuchen[1]). Im Respirationsapparat befand sich das Tier und der das Tier beobachtende Diener, der zugleich sein Pfleger war. Das Tier stand auf der aus Eichenbohlen zusammengesetzten Tretbahn. Der Experimentator und noch eine Hilfskraft befanden sich außerhalb des Kastens. Es wurde auf möglichste Ruhe beim Experimentieren geachtet, was um so leichter ging, weil ja alle Manipulationen außerhalb des verschließbaren Kastens stattfanden. Es wurde so eine Beunruhigung des Tieres vermieden. Die Anstellung der Versuche und die Probeentnahme betätigte ich auf die gleiche Art, wie sie Zuntz und Pächtner angegeben haben. Bei den früheren Versuchen wurde es vielfach als Störung empfunden, daß das Tier mitten im Versuch sich niederlegte oder anfing, wiederzukauen oder unruhig wurde. Bei meinen vorstehenden kritischen Darlegungen war ich mehrfach genötigt, komplizierte Rechnungen auszuführen, um aus den früheren Versuchen Schlüsse, denen aber immer eine gewisse Unsicherheit anhaftet, zu ziehen. Ich habe deshalb die Versuchsanordnung auf folgende Art modifiziert:

An dem Abzweigrohr für die Analysenluft war nicht eine Gassammelröhre, wie üblich, anmontiert, sondern deren 6, jede durch zwei Glashähne verschließbar. Die Rohre waren vorher mit angesäuertem und mit Atemluft geschütteltem Wasser gefüllt worden. Nachdem ich nun durch eine mehr als 10 Minuten dauernde Voratmung die Überzeugung gewonnen hatte, daß die Atmung des Tieres vollständig gleichmäßig geworden war, begann ich die erste Probeentnahme. Gab nun der Beobachter ein Zeichen, daß der Zustand des Tieres sich änderte, so wurde die eben im Gang befindliche Sammlung der Exspirationsluft durch Schließen der Glashähne der ersten Röhre unterbrochen und gleichzeitig der Stand der Gasuhr abgelesen, wie dies im

[1]) Tierarzt Klein, Der Energieaufwand des Rindes bei Arbeit. Centralbl. f. Physiol. 26, Nr. 16.

allgemeinen jede Minute zur Kontrolle der Gleichmäßigkeit der Atmung geschah. Um sofort das der neuen physiologischen Bedingung entsprechende Gas sammeln zu können, brauchte die Hilfskraft die an dem Schnurlauf befindliche Auslaufspitze nur an den vor dem Versuch genau markierten, mit der oberen Kuppe der Gassammelröhren kommunizierenden Punkt zu rücken, die Hähne der zweiten Röhre zu öffnen und der zweite Versuch nahm seinen Anfang. Dauerte die Phase lange genug, um die Sammelröhre vollständig mit Exspirationsluft zu füllen, so wurde er beendet. Änderte sich die Phase abermals, so wurde, wenn die neue der ersten konform war, der erste Versuch zu Ende geführt, oder aber bei einem neuen Wechsel des physiologischen Zustandes eine dritte Probeentnahme begonnen. Es wurde darauf gesehen, daß jeder Versuch so lange dauerte, bis das ganze Wasser der Sammelröhre ausgehebert war, um ja jede Absorption der Kohlensäure durch das Sperrwasser zu vermeiden. Proben in nur halb entleerten Röhren wurden nicht analysiert. Am Schluß jeder Versuchsreihe überzeugte ich mich, daß der Tampon der Kanüle noch genügend aufgeblasen war, also kein Verlust von Exspirationsluft stattgefunden hatte. Es gelang mir so, die Respirationsgröße jeder einzelnen Phase genau zu bestimmen und für jede eine gute Durchschnittsprobe zu gewinnen. Ebenso führte der Beobachter des Tieres über das Verhalten desselben genau Protokoll. Über das Verhalten des Tieres ist folgendes bemerkenswert. Es war unserm Tier eigentümlich, beim Stehen einmal pro Minute abwechslungsweise die Vorderbeine zu heben, hin und wieder auch den Schwanz. Da es die gleichen Bewegungen auch im Stand zeigte, so können dieselben als Unruheerscheinungen nicht bezeichnet werden, wenn sie natürlich auch eine steigernde Wirkung auf den Umsatz des stehenden Tieres hervorrufen mußten. Versuche, in denen das Tier größere Unruhe zeigte, z. B. Auf- und Niederbewegen des Kopfes, stärkere Bewegungen der Hinterhand wurden eliminiert.

Gruppierung der Versuche.

1. das ruhend stehende Tier längere Zeit nach der Futteraufnahme (relative Nüchternwerte),
2. dasselbe bald nach der Futteraufnahme,

3. das stehende Tier bei Futteraufnahme (Kauarbeit),
4. dasselbe beim Wiederkauen,
5. das liegende Tier,
6. das liegende und wiederkauende Tier.

A. Heuschrotfütterung.

In der Verabreichung des Futters wich ich von Dahm ab. Dahm teilte das Futter in 5 Portionen, verfütterte je einen Teil morgens zwischen 8 und 10, 10 und 12, 12 und 2, 4 und 6, 6 und 8 Uhr. Diesen Zeitintervallen folgte je ein Respirationsversuch nach. Ich fütterte in drei Abschnitten, morgens, mittags und abends. Dadurch näherte ich mich mehr den Verhältnissen der Praxis und erzielte eine größere, durch neue Futteraufnahme nicht unterbrochene Serie von Wiederkauversuchen, und, weil das Tier satt und der Pansen gefüllt war, im ganzen eine größere Ruhe. Bemerken möchte ich noch, daß ich unter meinen Versuchen keine Auswahl getroffen habe, sondern alle in der Generaltabelle zusammengestellt und auch alle zur Berechnung der nachfolgenden Mittelwerte herangezogen habe.

Tabelle I.

Stehend-Minutenwerte pro 1 kg Körpergewicht, 11 bis 14 Stunden nach der letzten Futteraufnahme und vor dem Morgenfutter (relative Nüchternwerte).

1	2	3	4	5	6
Versuchs-Nr.	CO_2 ccm	O_2 ccm	R.Q.	cal	Cal in 24 Std. pro 1 qm
4	3,1	4,1	0,774	19,6	—
7	3,4	4,0	0,843	19,7	—
14	3,3	4,1	0,810	20,0	—
15	3,2	4,0	0,820	19,4	—
Mittel	3,25	4,05	0,816	19,7	1759
Dahms Mittel	3,67	4,36	0,840	21,4	1548[1]

In Kolonne 6 wurden beide Calorienwerte mit dem Meehschen Faktor 12,4 berechnet; in den nachfolgenden Tabellen diente der Einfachheit halber der Faktor 10.

[1]) In Dahms Arbeit findet sich S. 501 die Zahl 1410 Cal, doch wurde dieser Wert nicht mit dem angegebenen Meehschen Faktor 12,4, sondern 13,4 berechnet. Die Zahl 1548 ergibt die Wärmeproduktion mit dem Meehschen Faktor 12,4.

Nach Beendigung der Morgenversuche bekam der Ochse 3 kg Heu und eine Handvoll Schrot, von der aus 8 kg gehäckseltem Heu und 1,65 kg Schrot bestehenden Tagesration, das gleiche Futter mittags, abends dann 2 kg Heu und den Rest Schrot. Die Ration ist äquivalent der in der Dahmschen Rauhfutterreihe verabfolgten bezogen auf gleiche Körperoberfläche.

Tabelle II.

Direkt nach Futteraufnahme.

Versuchs-Nr.	CO_2 pro Min. ccm	O_2 pro Min. ccm	R.Q.	cal pro Min.	Zeit nach Futteraufnahme in Minuten
1	4,13	4,8	0,868	23,5	10
3	4,13	4,8	0,872	23,6	12
5	3,90	4,3	0,931	21,4	30
9	4,00	4,1	0,970	20,6	20 vorher wiedergekaut
10	3,90	4,5	0,864	22,0	43
Mittel	4,012	4,50	0,901	22,2	—
Mittel bei Dahm	4,54	5,26	0,87	25,6	—

Die Wärmeproduktion übersteigt die des relativen Nüchternwertes um 12,7 %. Einen Vergleich mit dem aus Dahms Tabelle II entnommenen Mittelwert 25,6 Cal anzustellen dürfte nicht angängig sein, weil sich unter Dahms Versuchen einige mit sehr viel reichlicherer Futteraufnahme und dementsprechend höheren Werten befinden. Er gibt 21,3 % an, doch erniedrigt sich dieser Wert unter Ausschaltung von Versuch 11, dem eine abundante Schrotfütterung vorangegangen ist und der deshalb mit dieser Versuchsreihe nicht in Vergleich gezogen werden kann, auf 15 %, also eine Zahl, die der meinen nahe kommt.

Tabelle III.

Während der Futteraufnahme.

Versuchs-Nr.	CO_2 ccm	O_2 ccm	R.Q.	cal
8	4,5	5,6	0,805	27,4
16	4,5	5,4	0,824	26,6
Mittel	4,50	5,50	0,814	27,0
Dahm	4,92	5,97	0,82	28,8

Die Steigerung gegenüber den relativen Nüchternwerten berechnet sich auf 37,1 %, Dahm findet 36,1 %.

Tabelle IV.

Wiederkauversuche im Stehen.

Versuchs-Nr.	CO_2 ccm	O_2 ccm	R.Q.	cal
2	4,69	5,3	0,882	26,4
6	4,20	5,2	0,814	25,3
11	4,30	5,1	0,850	25,2
Mittel	4,40	5,20	0,849	25,6
Dahm	4,005	5,016	0,79	24,0

Der Vergleich muß, da die Wiederkauversuche der Tabelle IV auf der Höhe der Verdauung stattfanden, mit den Werten der Tabelle II vorgenommen werden. Ich finde so eine Erhöhung der Wärmeproduktion um 13,5% durch das Wiederkauen. Vergleiche ich noch die Versuche vom 10. III. ante coenam, wo ein Wiederkauversuch dem relativen Nüchternversuch vorangeht, so berechnet sich daraus eine Steigerung der Wärmeproduktion um 14,4%, also auch mit den Werten auf der Höhe der Verdauung in guter Übereinstimmung. Da die von Dahm zur Berechnung verwandten zwei Versuche ebenfalls in eine Zeit minimalen Verbrauches während der zweiten Periode fallen, so wären diese mit dem Versuch vom 10. III. zu vergleichen und ergeben mit 14,1 resp. 15,6% den gleichen Wert.

Tabelle V.

Liegeversuche.

Vers.-Nr.	CO_2 ccm	O_2 ccm	R.Q.	cal	Stunden nach der Mahlzeit	
17	2,4	3,1	0,784	15,0	1	absol. Ruhe } Kopf des Tieres liegt ausgestreckt auf dem Boden
18	2,7	3,1	0,849	15,3	1½	„ „ schläft } Kopf des Tieres liegt ausgestreckt auf dem Boden
19	3,3	3,7	0,872	18,4	3	Mittel 1685 Cal p. 1 qm u. 24h
20	3,1	3,6	0,866	17,8	3	Mittel 1685 Cal p. 1 qm u. 24h
32	3,1	3,5	0,870	17,5	3½	Mittel 1685 Cal p. 1 qm u. 24h
Mittel	2,92	3,40	0,848	16,8		

Wie aus den früheren Erörterungen hervorgeht, differieren die bisherigen Angaben über die Erhöhung des Stoffverbrauches und der Wärmebildung beim Stehen, verglichen mit dem liegenden Tier, recht erheblich; während Dahm 8% angibt und Armsby 30%, gestalten sich meine Werte folgendermaßen: gegenüber dem schlafenden Tier eine

Erhöhung von . . . . 46,5 %
gegenüber dem wachend liegenden Tier . . . . . . 24,0 %

im Mittel also . . . . 35,2 %

Wie Tabelle I Kolumne 6 zeigt, ist die Wärmeproduktion im Stehen pro 1 qm und 24 Stunden um 14 % höher beim älteren Tier gegenüber dem jüngeren. Da dies nur durch mechanische Momente — entweder Einfluß des größeren Körpergewichtes oder unzweckmäßige Stellung und dadurch bedingte stärkere Beanspruchung der Gliedmaßen und Muskeln bedingt sein kann, so will ich, da diese steigernden Momente beim liegenden Tiere wegfallen, die in Dahms Protokollen angeführten Liegeversuche mit den meinigen vergleichen.

Tabelle Vb.

Dahms Liegeversuche.

Prot.-Nr.	O_2 pro Min. Tier	R.Q.	Körpergew.	Cal pro 1 qm u. 24 Std.	Fütterungszustand
9	959	0,80	228,0	—	14^h ungefüttert
12	1034	0,85	232,0	—	14^h „
13	1045	0,83	232,5	—	14^h „
14	1095	0,93	238,5	1612	bekam v. d. Resp.-Vers. Heu u. Schrot
15	1130	0,87	238,5	1688	" " " " " " im Anschluß an 14.
17	1145	0,89	244,0	1693	bekam vorher Heu u. Schrot

Mit den letzten beiden Versuchen (15, 17) lassen sich meine Liegeversuche (19, 20, 32) direkt vergleichen: Das Tier befand sich im gleichen Futterzustand, es hatte auch ebensolange vorher Heu und Schrot erhalten, und die respiratorischen Quotienten sind gleich, woraus sich ergibt, daß auch dasselbe Nährstoffgemisch als Energiequelle diente. Aus meinen Versuchen berechnet sich die Wärmeproduktion auf 1685 Cal, also ein mit den früheren, 1½ Jahr zurückliegenden Versuchen vollständig übereinstimmender Wert. Da das Liegen denjenigen Zustand darstellt, bei dem das geringste Maß von Muskeltätigkeit aufgewendet wird, sind diese Versuche am besten geeignet, den Erhaltungsbedarf des jugendlichen Tieres mit dem des erwachsenen und inzwischen kastrierten zu vergleichen. Die Identität des auf die Oberflächeneinheit bezogenen Energieumsatzes beweist, daß weder der jugendlichere Zustand der Organe, noch die Anwesenheit der Geschlechtsorgane auf den Ruheumsatz einen Einfluß ausgeübt hat.

Tabelle VI.

Wiederkauen im Liegen.

Versuchs-Nr.	CO_2 ccm	O_2 ccm	R.Q.	cal	Stunden nach der Mahlzeit
13	3,7	4,1	0,893	20,6	3
21	3,6	4,2	0,850	20,8	4
26	3,5	4,1	0,850	20,3	5
28	3,2	3,6	0,887	17,9	2 1/2
29	3,6	4,2	0,856	20,8	3 1/4
30	3,5	4,1	0,869	20,1	3 1/2
31	4,2	4,3	0,972	21,5	3 1/2
Mittel	3,61	4,09	0,882	20,29	

Diese Wiederkauversuche im Liegen, verglichen mit denen ohne Wiederkauen (Tabelle V, Mittel, unter Außerachtlassung der zwei niedrigsten Werte in den Schlafversuchen 17 und 18 = 17,90) geben eine prozentuale Steigerung von 13,4%. Bei den Heumelasseversuchen (siehe Tabelle XI und XII) wurde durch den gleichen physiologischen Zustand eine solche von 15,5% hervorgerufen. Auffallend war, daß das Tier bei letzterer Fütterung viel weniger wiederkaute als bei der Heu-Schrotfütterung. So habe ich manchen Abend nach dem Futter stundenlang vergeblich gewartet, ohne daß das Tier wiederkaute.

Tabelle VII.

Versuche am stehenden Tier, deren R.Q. 1,0 beträgt. Nach intensivem Wiederkauen oder während desselben.

Vers.-Nr.	CO_2	O_2	R.Q.	cal	
12	3,3	3,3	1,020	16,6	Stehend $1^1/_2{}^h$ p. c. unmittelbar nach
22	3,0	3,1	0,977	15,6	intensivem Wiederkauen
24	3,5	3,4	1,011	17,4	Stehend, intensiv wiederkauend. $2^1/_4$
27	3,5	3,5	1,003	17,6	bis 3^h p. c.

In dieser Tabelle habe ich einige aus der Heuschrotperiode noch übrig bleibende Versuche zusammengestellt. Sie zeichnen sich dadurch aus, daß der R.Q. die Einheit erreicht oder übersteigt, und zeigen weiterhin die Merkwürdigkeit, daß dieser hohe R.Q. dadurch zustande kommt, daß die Kohlensäureausscheidung der bei den sog. Nüchternwerten beobachteten entspricht, während der O_2-Verbrauch noch unter diesen Wert fällt. Ein weiteres gemeinschaftliches Merkmal zeigen die Versuche: sie fallen alle entweder nach Schluß oder gegen das Ende einer sehr intensiven Wiederkauperiode. Das Tier hatte lange Zeit schon

wiedergekaut, hatte Schaum vor dem Maul und stand wie benommen, mit geschlossenen Augen vollständig ruhig da, in einem beinahe schlaftrunkenen Zustand. Da die Versuche (vgl. Generaltabelle) unmittelbar solchen vorangehen oder folgen, wie sie als normal beim Rinde gelten dürfen, da ein Analysenfehler bei der vierfachen Wiederholung ausgeschlossen erscheint, und da alle Versuche bestimmte gleiche Merkmale zeigen, so glaubte ich, sie nicht unerwähnt lassen zu dürfen. Der hohe Quotient macht es wahrscheinlich, daß durch das vorangegangene intensive Wiederkauen unvergorene Kohlenhydrate (eventuell auch Milchsäure) in erheblicherer Menge durch den Labmagen in den Dünndarm übergeführt und hier resorbiert worden sind. Ferner wird man daran denken dürfen (was aus dem niedrigen Sauerstoffverbrauch geschlossen werden kann), daß der gesamte Verdauungsapparat nach der vorangegangenen starken Wiederkauperiode in einen ungewöhnlichen Ruhezustand, ähnlich wie das Gesamttier, verfallen ist.

B. Heumelassefütterung.

In den Dahmschen Versuchen bestand Periode 2, die Vergleichsperiode, aus einem zellulosearmen Futter, nämlich viel Schrot und wenig Heu. Er fand nun beim Vergleich der Nüchternwerte der beiden Perioden in der cellulosearmen einen um 21,3 % geringeren Energieverbrauch, den er auf die Armut des Futters an Rohfaser bezieht und durch Verringerung der mechanischen Verdauungsarbeit erklärt. Dieser Schluß wird erschüttert durch die hier folgende Reihe, in der die Heumenge unverändert blieb und das Schrot durch Melasse ersetzt wurde.

Ich behielt, wie gesagt, in meiner Vergleichsreihe die Menge des zellulosereichen Futters bei, die ich nur in den letzten Versuchstagen um $^1/_8$ verringern mußte, weil das Tier die ganze Menge nicht mehr aufnahm, und änderte nur das Beifutter, indem ich statt Schrot Melasse verfütterte. Es wäre nun, unter der Annahme, daß das Mehr der Wärmeproduktion in dem rohfaserreichen Dahmschen Versuch ganz auf Rechnung der Cellulose zu setzen sei, zu erwarten, daß die Wärmebildung in meiner zweiten Versuchsreihe (Heumelasse) nur wenig unter die in der ersten Versuchsreihe (Heuschrot) ermittelte fallen darf, entsprechend der geringen Menge Rohfaser im Schrot. Das ist

nun nicht der Fall, vielmehr erzielte ich schon durch Zufügung von Melasse zum bisherigen Futter, mehr noch durch den Austausch von Schrot gegen Melasse, wie ich vorweg bemerken möchte, eine Erniedrigung des Stoffumsatzes, die im letzteren Falle zufällig ebenso groß ist, wie die in der Dahmschen cellulosearmen schrotreichen Reihe (siehe Kurve I).

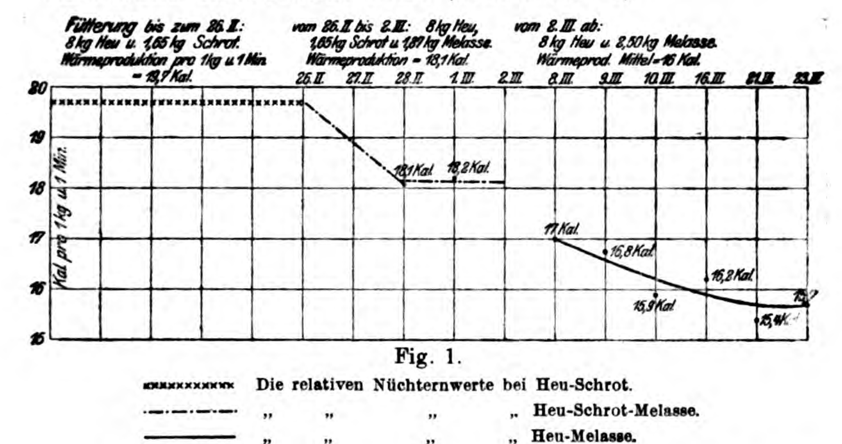


Fig. 1.

×××××××××× Die relativen Nüchternwerte bei Heu-Schrot.
—·—·—·— „ „ „ „ Heu-Schrot-Melasse.
———— „ „ „ „ Heu-Melasse.

Bevor ich die Werte der relativen Nüchternversuche der Heumelassefütterung bespreche und vergleiche, möchte ich die Fütterungstabelle der Übergangsperiode vorausschicken.

Tabelle VIII.

Datum	Gewicht kg	Futter Heu kg	Beifutter
26. II.	530,2	8	1,65 kg Schrot
27.	530,0	8	1,65 kg „ 1,87 kg Melasse
28.	525,0	8	1,65 kg Schrot 1,87 kg Melasse
1. III.	525,0	8	1,65 kg Schrot 1,87 kg Melasse
2.	530,0	8	1,65 kg Schrot 1,87 kg Melasse
3.	523,5	8	1,87 kg „
4.	526,0	8	2,50 kg „
Bis 11. III. das gleiche Futter			
11. III.	522,0	7	2,50 kg Melasse
bis			
20. III.	530,0	7	2,50 kg „

Es wurde also zum Schrot Melasse zugelegt, dann das Schrot fortgelassen und die Menge der Melasse auf 2,5 kg erhöht. Der Caloriengehalt beider Mengen (1,65 kg Schrot und 2,50 kg Melasse) war beinahe gleich.

Tabelle IX.

Relative Nüchternwerte der Heu-Melassefütterung pro Kilogramm und Minute.

Dat.	Vers. Nr.	CO_2 ccm	O_2 ccm	R.Q.	cal	
28. II.	34	2,9	3,6	0,825	17,5	Übergangszeit von d. Schrotfütterung zur Melassefütterung
28.	35	3,1	3,8	0,806	18,6	
1. III.	38	2,9	3,7	0,780	18,2	
1.	42	3,0	3,7	0,800	18,0	
8.	43	2,9	3,5	0,820	17,0	
8.	44	2,8	3,3	0,850	16,2	
9.	47	2,8	3,4	0,805	16,8	
9.	48	2,7	3,4	0,814	16,5	
10.	46	2,7	3,3	0,833	15,9	
16.	53	2,8	3,3	0,836	16,3	Heumenge um 1/8 verringert
16.	54	2,8	3,3	0,849	16,2	
21.	55	2,7	3,1	0,866	15,4	
23.	57	2,6	3,2	0.790	15,7	
Mittel	34–42	2,9	3,7	0,802	18,07	
"	43–46	2,78	3,38	0,824	16,4	
"	53–57	2,7	3,21	0,835	15,9	

Die ersten 4 Nüchternversuche fallen in die Zeit, wo der unveränderten Schrotgabe Melasse zugelegt wurde. Die Wärmeproduktion (18,1 Cal) ist niedriger als in den Heu-Schrotversuchen, aber noch höher als in der reinen Heu-Melasseperiode (Kurve I).

Während wir sonst gewohnt sind, nach jeder Erhöhung der Tagesration eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs zu finden, zeigt sich hier, daß die Zugabe der Melasse den Verbrauch im Zustande relativer Nüchternheit herabgesetzt hat. Eine vollkommen zutreffende Erklärung dieses merkwürdigen Phänomens wird erst zu geben sein, wenn vollständige Kurven über das Verhalten des Gaswechsels in allen Stunden nach der gemischten Schrot-Melassefütterung, verglichen mit Schrotfutter allein, vorliegen. Vorläufig wird man an folgendes denken müssen. Es beschleunigt die Beigabe von Melasse die Überführung des Panseninhalts in den Labmagen und weiter in den Dünndarm, so daß die Verdauung und Resorption bei

Zugabe von Melasse nach 14 Stunden schon weiter gediehen ist als ohne dieselbe. Wenn diese Erklärung richtig ist, müßte in den ersten 6 bis 10 Stunden nach der Fütterung der Sauerstoffverbrauch und auch der respiratorische Quotient bei Zugabe von Melasse höher sein als ohne dieselbe, was ich demnächst untersuchen werde.

Vorläufig liegen nur einige Versuche aus der 3. Stunde nach dem Fressen vor, die ich in Tabelle XI zusammengefaßt habe. Verglichen mit den entsprechenden Versuchen bei Heu-Schrotfütterung (Tabelle V, S. 183) zeigen sie gleichen Energieverbrauch und sogar etwas niedrigeren respiratorischen Quotienten.

Wir wissen aus den Versuchen von Markoff (l. c.), daß Zugabe von zuckerreichem Material, wie es die Melasse ist, die Intensität der Gärung für einige Stunden auf das Mehrfache erhöht, daß aber diese gesteigerte Gärung nicht länger als 4 bis 8 Stunden anhält. An die gesteigerte Gärung dürfte sich wohl eine entsprechend schnellere Überführung des Materials in den vierten Magen anschließen. Wenn diese Erklärung richtig ist, werden wir um so mehr erwarten müssen, daß bei vollständigem Ersatz des Schrotes durch Melasse die schnellere Vergärung derselben und die schnellere Überführung des Materials aus dem Pansen sich geltend macht, und wir werden uns daher nicht wundern, wenn die äquivalente Menge Melasse einen um etwa 20% niedrigeren Energieumsatz um die 14. Stunde nach der Fütterung herbeiführt.

Einigermaßen mag an dem höheren Energieumsatz in der Heu-Schrotperiode auch der relativ große Eiweißgehalt des Schrotes beteiligt sein, in dem Sinne, daß die spezifisch dynamische Wirkung des Eiweißes [Rubner[1])] auch in der 14. Stunde nach der Aufnahme zugleich mit viel Rauhfutter sich noch in nennenswertem Maße geltend macht. Sicher ist diese Wirkung erheblich beteiligt bei den hohen Werten des Energieumsatzes, die ich ebenso wie Dahm bei Schrotfütterung (in Verbindung mit wenig Rauhfutter) in den ersten 8 Stunden gefunden habe.

Aus meinen Versuchen möchte ich so viel folgern, daß beim Wiederkäuer die rein mechanischen Anforderungen an den Ver-

[1]) M. Rubner, Vertretungswerte der organischen Nahrungsstoffe. Zeitschr. f. Biol. **19**, 330. — Derselbe, Die Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung. Leipzig und Wien 1902.

dauungsapparat, wie sie durch den Cellulosegehalt des Futters bedingt sind, nicht ausreichen, um alle Veränderungen des Stoffumsatzes bei verschiedener Fütterung zu erklären. Neben den schon angedeuteten Möglichkeiten kommt auch diejenige in Betracht, die sich aus den unter Leitung von Zuntz ausgeführten Versuchen von Schirokich über die Wirkung der Pentosen ergibt. Schirokich[1]) fand unter den so viel einfacheren Verhältnissen, wie sie beim Hunde bestehen, daß Pentosen, trotzdem sie eine gewisse Verdauungsarbeit bedingen, den Gesamt-Stoffumsatz herabsetzen. Gerade bei der Melasse wird man daran denken können, daß die Mannigfaltigkeit der in ihr enthaltenen N-haltigen und N-freien Stoffe [wozu noch bei der Fabrikation der Melasse gebildete eigentümliche Reizstoffe kommen (Pott[2])] besondere Wirkungen, sei es auf den Stoffwechsel, sei es auf die Gärungen in den Vormägen, entfaltet. Daß solche Wirkungen bei der Melasse bestehen, wird auch durch die Untersuchungen von Kellner[3]) sehr wahrscheinlich gemacht. Derselbe fand bekanntlich, daß dieselbe Menge Zucker in der Melasse merklich niedrigere Gärverluste bedingte als bei Verabreichung entsprechender Mengen reinen Rohrzuckers. Und ferner fand er, daß die Kohlenhydrate der Melasse in noch stärkerem Maße, als dies aus den Unterschieden in der Methanbildung ableitbar war, sich dem reinen Rohrzucker für die Fettbildung überlegen zeigten, das heißt also, in Übereinstimmung mit meinen Befunden, daß bei Melassefütterung die Energieverluste des Körpers besonders gering sind.

Wieweit solche Wirkungen in Betracht kommen, müssen weitere Versuche zeigen; denn da es sich bei Kellner um verschiedene Versuchstiere handelt, können auch individuelle Unterschiede, namentlich verschieden starke Muskeltätigkeit und Unterschiede in den Gärverlusten, in Betracht kommen.

Als Anhang folgen die Tabellen der Heu-Melassefütterung, auf die früher schon zum Vergleich mit denen der Heu-Schrot-

[1]) P. Schirokich, Beitrag zur Bedeutung der Pentosen als Energiequelle im tierischen Organismus. Diese Zeitschr. 55, 370, 1913.

[2]) Emil Pott, Handb. der tier. Ernährung u. der landw. Futtermittel. 2. Aufl. 1904.

[3]) O. Kellner, L andw. Versuchsstationen 55, 379, 1901.

fütterung bei gleichen physiologischen Vorgängen Bezug genommen worden ist.

Tabelle X.

Stehen während der Verdauung.

Vers. Nr.	CO_2	O_2	R.Q.	cal		
52	3,5	4,1	0,882	20,2	4h p. c.	Tagesfutter 8 kg Heu, 2,5 kg Melasse.

Tabelle XI.

Liegeversuche ohne Wiederkauen.

Vers. Nr.	CO_2	O_2	R.Q.	cal	Stunden nach der Mahlzeit	
36	2,8	3,3	0,847	16,4	3	Tagesfutter 8 kg Heu, 1,65 kg Schrot, 1,87 g Melasse.
39	2,8	3,5	0,816	17,0	3	
49	2,7	3,5	0,788	16,9	3	Tagesfutter 8 kg Heu, 2,50 kg Melasse.
50	2,7	3,4	0,797	16,6	3	
51	2,7	3,4	0,798	16,7	3	
56	2,8	3,3	0,840	16,2	3	Tagesfutter 7 kg Heu, 2,50 kg Melasse.
Mittel	2,75	3,40	0,814	16,7		

Tabelle XII.

Liegeversuche mit Wiederkauen.

Vers. Nr.	CO_2	O_2	R.Q.	cal	
37	3,0	3,7	0,79	18,4	Tagesfutter 8 kg Heu, 1,65 kg Schrot, 1,87 kg Melasse. 3 bis 4 Stunden nach der Mahlzeit
40	3,2	3,9	0,83	18,9	
41	3,5	4,2	0,83	20,5	
Mittel	3,23	3,93	0,817	19,3	

Besprechung der vorstehenden Versuchsergebnisse.

a) Verdauungsarbeit.

Während beim Pferd sicher nachgewiesen ist, daß durch den Mehrgehalt des Futters an Rohfaser eine sehr erhebliche Steigerung des Energieumsatzes bewirkt wird, die naturgemäß als Folge der vergrößerten mechanischen Verdauungsarbeit aufgefaßt wird (Hagemann, Zuntz-Hagemann), ergibt sich aus meinen und auch aus Dahms Versuchen, daß eine solche Wirkung des Rauhfutters beim Wiederkäuer nur in sehr geringem Maße besteht. Soweit sie vorhanden ist, kann sie durch Modifikationen der Pansengärung ganz und gar verdeckt werden.

Wir dürfen wohl annehmen, daß beim Wiederkäuer die mechanischen und chemischen Arbeiten, die sich vom Labmagen ab vollziehen, annähernd von eben der Größe sind wie bei den einmägigen Tieren, speziell auch beim Hund und Menschen, bei denen ja die Beziehungen zwischen zugeführten Nährstoffmengen und Steigerung des Stoffwechsels am genauesten studiert sind. Wir dürfen also wohl damit rechnen, daß dieser Teil der Verdauungsarbeit einschließlich der nach der Resorption in Betracht kommenden spezifisch-dynamischen Wirkungen pro 1 g Eiweiß ca. 16 %, pro 1 g Kohlenhydrat ca. 9 bis 10 % und pro 1 g Fett ca. $2^1/_2$ % der Energie dieser Nährstoffe beansprucht. Hierzu kommt dann beim Wiederkäuer noch die mechanische Arbeit des Kauens und Wiederkauens, für die unsere Messungen ergeben haben, daß sie, bezogen auf 1 kg Heu, nur ca. 94,2 bis 111,7 Cal gegenüber 167 Cal für die Kauarbeit des Pferdes beträgt; ferner ein noch nicht in Zahlen ausdrückbares, aber wohl nicht geringes Quantum mechanischer Arbeit der Muskulatur der Vormägen, deren physiologisch bedingte, unwillkürliche Contraction ca. 2 bis 3 mal in 2 Minuten wahrgenommen wird. Die mechanische Arbeit des Dünndarmes kann, weil ein großer Teil der Cellulose bereits gelöst, der übrige Teil aufs feinste zerkleinert ist, auch nicht annähernd so groß wie beim Pferd sein. Es scheint also, daß die vom Rohfasergehalt abhängende mechanische Verdauungsarbeit des Pferdes beim Wiederkäuer durch den Akt des Wiederkauens und die weitgehende Vergärung der Cellulose in den Vormägen zum großen Teil ersetzt wird.

b) Wirkung der Kastration.

Wie S. 184 schon erwähnt, hat die Kastration die Größe des Stoffwechsels nicht verändert.

Über den Einfluß des inneren Sekretes der Generationsorgane auf die Oxydationsenergie der Zellen liegen mehrere Untersuchungen vor, die zum größten Teil mit der Zuntzschen Methode durchgeführt wurden. In den Versuchen von Löwy und Richter[1]) wurde der Erhaltungsumsatz von Hunden vor

[1]) A. Löwy und Richter, Zur Frage nach dem Einfluß der Kastration auf den Stoffwechsel, Centralbl. f. Physiol. 1902. — Dieselben, Sexualfunktion und Stoffwechsel, Engelmanns Arch. f. Physiol. 1899, Suppl. 519.

und nach der Kastration gemessen. Der Umsatz sank nach Entfernung der Geschlechtsorgane um 14 bis 20 % ab. L. Zuntz[1]) untersuchte Frauen vor und nach der Ovariotomie und fand nur in einem von vier Fällen Herabsetzung der Oxydation. Die Versuche Lüthjes[2]) zeigten keine Beeinflussung des Energieumsatzes. Das negative Resultat in meinem Falle entscheidet die Frage für Rinder nicht endgültig, weil das Tier zur Zeit der Dahmschen Versuche noch nicht vollkommen geschlechtsreif war.

Das positive Resultat von Pächtner ist nicht einwandfrei, weil die Fütterung vor und nach der Kastration wesentlich verschieden war.

c) Einfluß des Stallbodens und der Klauenpflege auf den Stoffwechsel.

Eine kurze Zusammenstellung der Wärmebildung des liegenden und des stehenden Tieres bei der Körperoberfläche äquivalentem Futter in Dahms und meinen Versuchen soll hier nochmals folgen.

Liegend:

Bei Dahm: pro 1 qm und 24 Stunden

3 Stunden nach der Mahlzeit . . . . (Mittel aus 2 Versuchen)	1688 Cal	Meehscher Faktor 10
bei mir pro 1 qm und 24 Stunden . . (Mittel aus 3 Versuchen)	1685 Cal	

Stehend:

Bei Dahm:

3 Stunden nach der Mahlzeit . . . . (Mittel aus 3 Versuchen)	1796 Cal	Meehscher Faktor 10
bei mir . . . . (Mittel aus 4 Versuchen)	2192 Cal	

Die Nüchternwerte auf 1 qm und 24 Stunden umgerechnet: beim stehenden Tier bei Dahm 1920 Cal [Meehscher Faktor 10] bei mir . . . . 2181 Cal [Meehscher Faktor 10] (vgl. Tab. I), also bei mir 19 % mehr.

[1]) Leo Zuntz, Über den Einfluß der Kastration auf den resp. Gaswechsel, Deutsche Zeitschr. f. Geburtshilfe u. Gynäkol. **53**, 1904.

[2]) H. Lüthje, Über die Kastration und ihre Folgen. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **48**, **50**, 1908.

Generaltabelle A.

Vergleichende Versuche mit einem dem Dahmschen äquivalenten 8 kg Heu und

Lfd. Nummer	Datum	Tageszeit	Versuch			Atmung			Atemluftanalysen			
						Volum						
			Zustand	Zeit nach der Mahlzeit	Dauer	abgelesen	red.	Frequenz	CO_2	O_2	N_2	O_2 Def.
	1911											
1	14. II.	$1^{16}-1^{20}, 1^{31}-1^{40}$	stehend	direkt n. Mittagfutter	13′	56,9	53,24	16	4,17	16,25	79,58	4,77
2	14.	$1^{22}-1^{29}, 2^{9}-2^{13}$	st., wkd.		11′	61,5	57,46	20	4,40	16,05	79,55	4,95
3	14.	$1^{41}-1^{54}$	st.		13′	57,3	53,49	17	4,20	16,24	79,56	4,77
4	15.	$8^{40}-8^{56}$	st., ncht.	a. c.	16′	44,6	41,63	17	4,04	15,94	80,02	5,18
5	15.	$10^{20}-10^{35}$ $10^{48}-10^{54}$	st., verd.	30′	7′ 6′=13′	46,4 58,3	48,16	18	4,34	16,20	79,46	4,788
6	15.	$10^{36}-10^{47}$	st., wkd.	45′	13′	58,3	54,02	22	4,25	15,90	79,85	5,18
7	16.	$8^{43}-9^{00}$	st., ncht.	a. c.	17′	48,2	44,92	16	4,03	16,29	79,68	4,745
8	16.	$9^{26}-9^{38}$	st., fress.	inter. c.	13′	61,6	57,4	20	4,26	15,84	79,90	5,255
9	16.	$10^{07}-10^{20}$	st.	20′	13′	56,9	52,56	20	4,10	16,71	79,19	4,196
10	16.	$10^{31}-10^{39}$	st.	43′	8′	58,7	55,46	20	3,78	16,66	79,56	4,33
11	16.	$10^{51}-10^{58}$	st., wkd.	1^h	7′	65,8	60,75	22	3,87	16,49	79,64	4,535
12	16.	$11^{07}-11^{14}$	st.	$1^1/_2{}^h$	7′	[48,2	45,52]	20	3,98	16,99	79,03	3,87
13	17.	$10^{09}-10^{22}$	lg., wkd.	3^h	13′	55,8	49,59	31	4,04	16,50	79,46	4,50
14	21.	$8^{35}-8^{49}$	st., ncht.	a. c.	14′	48,9	44,43	20	3,92	16,27	79,81	4,80
15	21.	$8^{51}-9^{06}$	st., ncht.	a. c.	15′	49,0	44,52	20	3,82	16,42	79,76	4,63
16	21.	$9^{35}-9^{50}$	st., fress.	inter. c.	15′	55,8	51,68	26	4,63	15,55	79,82	5,523
17	21.	$10^{10}-10^{25}$	lg., schläft	1^h	15′	30,8	28,74	12	4,48	15,46	80,08	5,676
18	21.	$10^{56}-11^{19}$	lg., vorh. wiedergek., schläft	$1^1/_2{}^h$	23′	31,9	29,72	12	4,75	15,50	79,75	5,555
19	22.	$4^{02}-4^{20\,1/2}$	lg.	3^h	$18^1/_2{}'$	41,7	38,11	normal	4,58	15,82	79,60	5,193
20	22.	$4^{33}-4^{50}$	lg.	3^h	17′	40,9	37,33	„	4,47	15,90	79,63	5,123
21	22.	$4^{51}-4^{58}$	lg., wkd.	4^h	7′	46,8	42,7	„	4,48	15,80	79,72	5,247
22	23.	$4^{10}-4^{20}$	st.	3^h	10′	53,8	49,33	„	3,30	17,55	79,15	3,346
23	23.	$4^{22}-4^{27}$	st., wkd.	3^h	5′	61,5	56,15	„	3,87	16,97	79,16	3,929
24	23.	$4^{38}-4^{50}$	st., wkd.	$3^1/_2{}^h$	14′	57,8	52,76	40	3,53	17,41	79,06	3,462
25	23.	$5^{10}-5^{26}$	lg.	4^h	16′	48,3	44,1	14	4,40	16,11	79,49	4,875
26	23.	$6^{01}-6^{13}$	lg., wkd.	5^h	12′	47,8	43,44	16	4,33	15,98	79,69	5,06
27	24.	$9^{02}-9^{17}$	st., wkd.	$2^1/_4{}^h$	15′	50,7	45,79	19	4,07	16,86	79,07	4,015
28	24.	$9^{26}-9^{33}$	lg., wkd.	$2^1/_2{}^h$	7′	41,1	37,05	20	4,58	15,87	79,55	5,13
29	24.	$10^{03}-10^{10}$	lg., wkd.	$3^1/_4{}^h$	7′	48,7	43,89	22	4,37	15,98	79,67	5,073
30	24.	$10^{11}-10^{20}$	lg., wkd.	$3^1/_2{}^h$	9′	49,2	44,34	24	4,24	16,17	79,59	4,842
31	24.	$10^{22}-10^{35}$	lg., wkd.	$3^1/_2{}^h$	13′	55,9	50,33	28	4,38	16,43	79,19	4,476
32	27.	$9^{30}-9^{50}$	lg.	$3^1/_2{}^h$	20′	39,4	35,98	14	4,58	15,80	79,62	5,22
33	27.	$10^{36}-10^{45}$	lg., wkd.	$4^1/_2{}^h$	9′	42,0	38,35	14	4,47	—	—	—

Aus der Zusammenstellung S. 193 geht hervor, daß das **stehende** ältere Tier einen um ca. 18% gesteigerten Verbrauch hat. Die Gründe hierfür sind folgende. Mit der mächtigen Entwicklung des Körpers hielt die Entwicklung der Extremitäten nicht gleichen Schritt, so daß unser Tier, zumal wenn es auf hartem Boden stand, leicht Ermüdungserscheinungen zeigte, was auch in dem bereits er-

Kanülenversuche.

Futter bei Liegen, Stehen und Wiederkauen.
1,65 kg Schrot.

CO_2-Ausscheidung			O_2-Verbrauch			R.Q.	Calorien			Tiergewicht	Bemerkungen
pro Tier und Min.	pro Min. und kg	pro Min. und qm	pro Tier und Min.	pro Min. und kg	pro Min. und qm		pro Tier und Min.	pro Min. und kg	pro Min. und qm		
2204	4,13	335	2540	4,80	386	0,868	12,545	0,0235	1,906	534	
2508	4,69	381	2844	5,30	432	0,882	14,073	0,0264	2,138	534	
2209	4,13	336	2551	4,8	388	0,872	12,599	0,0236	1,914	534	
1670	3,1	254	2156	4,1	328	0,774	10,451	0,0196	1,592	532	
2075,5	3,9	314	2306	4,3	349	0,931	11,516	0,0214	1,741	538	
2279,5	4,2	345	2789	5,2	422	0,814	13,621	0,0253	2,059	538	
1797,4	3,4	274	2131	4,0	325	0,843	10,468	0,0197	1,594	532	
2428	4,5	367	3016	5,6	456	0,805	14,730	0,0274	2,227	538	
2139	4,0	323	2205	4,1	333	0,970	11,092	0,0206	1,677	538	
2075	3,9	314	2401	4,5	363	0,864	11,837	0,0220	1,789	538	
2339	4,3	354	2755	5,1	416	0,85	13,557	0,0252	2,049	538	
[1798	3,3	272	1761	3,3	266]	1,02	[8,940	0,0166	1,351]	538	Vielleicht Tamponkanüle undicht.
1993,8	3,7	301	2231	4,1	337	0,893	11,062	0,0206	1,672	538	
1728	3,3	267	2134	4,1	330	0,81	10,422	0,0200	1,610	521	
1688	3,2	261	2061	4,0	318	0,82	10,085	0,0194	1,558	521	
2372	4,5	363	2877	5,4	440	0,824	14,078	0,0266	2,152	529	
1279	2,4	196	1631	3,1	249	0,784	7,921	0,0150	1,211	529	
1402	2,7	214	1650	3,1	252	0,850	8,119	0,0153	1,241	529	
1726	3,3	264	1979	3,7	302	0,872	9,774	0,0184	1,492	530	Hat vorher wiedergekaut.
1657	3,1	253	1912	3,6	292	0,866	9,443	0,0178	1,442	530	
1899	3,6	290	2239	4,2	342	0,85	11,020	0,0208	1,683	530	
1613,3	3,0	245	1651	3,1	251	0,977	8,321	0,0156	1,266	533	
2165	4,1	329	2209	4,1	336	0,980	11,133	0,0209	1,693	533	
1846,5	3,5	281	1826	3,4	278	1,011	9,255	0,0174	1,408	533	
1926,5	3,6	293	2149	4,0	327	0,896	10,673	0,0200	1,624	533	Legte sich um 5h.
1868	3,5	284	2198	4,1	334	0,850	10,816	0,0203	1,645	533	
1846	3,5	283	1838	3,5	282	1,003	9,297	0,0176	1,425	527	
1685	3,2	258	1900	3,6	291	0,887	9,419	0,0179	1,444	527	
1905	3,6	292	2226	4,2	341	0,856	10,974	0,0208	1,682	527	
1867	3,5	286	2146	4,1	329	0,8695	10,599	0,0201	1,625	527	
2189	4,2	336	2253	4,3	345	0,972	11,334	0,0215	1,737	527	Atemvolumen fällt nach Wiederkauen auf ca. 35 l pro Min.
1637,2	3,1	250	1878	3,5	287	0,872	9,275	0,0175	1,416	530	
1703	3,23	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

wähnten Trippeln mit den Vorderbeinen zum Ausdruck kommt. Durch diese akzessorische Muskeltätigkeit wird der Verbrauch des stehenden Tieres naturgemäß gesteigert. Beim Stehen auf weicher Streu (wie die Vergleichsversuche von Pächtner und Dahm angestellt waren) fällt dieser steigernde Effekt weg, und die Tiere stehen sehr lange Zeit, ohne eine Bewegung zu machen.

Generaltabelle B.

Bis Versuch 57 inkl. 8 kg

Lfd. Nummer	Datum	Tageszeit	Versuch			Atmung Volum		Atmung	Atemluftanalysen			
			Zustand	Zeit nach der Mahlzeit	Dauer	abgelesen	red.	Frequenz	CO_2	O_2	N_2	O_2 Def.
	1911											
34	28. II.	morgens	st., ncht.	a. c.	17′	45,0	41,33	20	3,77	16,50	79,73	4,55
35	28.	„	st., ncht.	a. c.	9′	47,0	43,12	21	3,77	16,43	79,80	4,64
36	28.	ab. $9^{42}-9^{57}$	lg.	3^h	16′	36,0	32,57	18	4,60	15,65	79,75	5,394
37	28.	„ $9^{59}-10^{07}$	lg., wkd.	$3^1/_2{}^h$	16′	39,4	35,62	25	4,45	15,53	80,02	5,595
38	1. III.	mrg. $7^{42}-7^{57}$	st., ncht.	a. c.	15′	45,3	40,93	20	3,76	16,30	79,94	—
39	1.	ab. $9^{37}-9^{42}$ „ u. $10^{12}-10^{26}$	lg.	3^h	21′	40,1	36,65	14	4,13	16,05	79,82	5,023
40	1.	„ $9^{45}-9^{53}$	lg., wkd.	3^h	8′	43,5	39,74	normal	4,33	15,89	79,78	5,172
41	1.	„ $10^{37}-10^{47}$	lg., wkd.	4^h	10′	48,0	43,86	26	4,22	16,01	79,77	5,05
42	3.	mrg. $7^{30}-7^{46}$	st., ncht.	a. c.	16′	46,1	42,43	18	3,68	16,50	79,82	4,57
43	8.	„ $7^{41}-8^{00}$	st., ncht.	a. c.	19′	41,3	38,06	16	4,03	16,21	79,77	4,85
44	8.	„ $8^{04}-8^{22}$	st., ncht.	a. c.	18′	42,8	39,37	15	3,82	16,58	79,60	4,435
45	10.	„ $7^{52}-8^{10}$	st., wkd.	a. c.	18′	44,2	40,89	normal	4,13	16,23	79,64	4,795
46	10.	„ $8^{26}-8^{36}$	st., ncht.	a. c.	10′	41,2	38,04	normal	3,81	16,50	79,67	4,54
47	9.	„ $7^{28}-7^{47}$	st., ncht.	a. c.	19′	39,0	36,14	16–17	4,10	16,03	79,87	5,055
48	9.	„ $7^{50}-8^{09}$	st., ncht.	a. c.	19′	39,6	36,66	16–17	4,01	16,18	79,81	4,89
49	10.	ab. $9^{34}-9^{46}$	lg.	3^h	12′	35,3	32,3	15	4,45	15,52	80,03	5,61
50	11.	„ $9^{23}-9^{33}$	lg.	3^h	10′	32,7	29,97	10–12	4,75	15,21	80,08	5,92
51	11.	„ $9^{43}-9^{54}$	lg.	3^h	11′	33,2	30,39	10–12	4,73	15,24	80,03	5,89
52	11.	„ $10^{38}-10^{45}$	st.	4^h	7′	48,0	43,83	16–17	4,26	16,16	79,58	4,85
53	16	mrg. $7^{58}-8^{17}$	st., ncht.	a. c.	19′	40,3	36,87	18	4,07	16,30	79,63	4,723
54	16.	„ $8^{18}-8^{38}$	st., ncht.	a. c.	20′	38,9	35,55	18	4,15	16,18	79,67	4,853
55	21.	„ $8^{59}-9^{15}$	st., ncht.	a. c.	16′	34,8	32,42	10	4,38	16,0	79,62	5,02
56	22.	ab. $9^{11}-9^{26}$	lg.	3^h	14′	34,3	31,66	normal	4,65	15,59	79,76	5,47
57	23.	mrg. $8^{48}-9^{03}$	st., ncht.	a. c.	15′	34,8	32,38	normal	4,20	15,84	79,96	5,25
	1912											
58	5. III.	mrg. $7^{53}-8^{09}$	st., ncht.	a. c.	17′	68,1	61,62	18	3,42	17,14	79,44	3,832
59	5.	„ $11^{09}-11^{32}$	st., wkd.	1^h	13′	87,8	78,53	21	3,64	17,21	79,15	3,685
60	5.	„ $11^{40}-11^{54}$	st.	$1^1/_2{}^h$	14′	78,3	69,92	18	3,49	17,30	79,21	3,61
61	6.	mrg. $7^{35}-8^{05}$	st., ncht.	a. c.	30′	59,9	54,35	15	3,65	16,83	79,52	4,165
62	6.	„ $11^{18}-11^{31}$	st.	1^h	20′	74,5	66,93	19–20	3,70	17,15	79,15	3,746
63	6.	„ $12^{05}-12^{20}$	st.	2^h	15′	69,9	62,59	19	3,72	16,84	79,44	4,134
64	7.	„ $7^{25}-7^{43}$	st., ncht.	a. c.	18′	60,0	54,43	18	3,92	16,62	79,46	4,357
65	7.	„ $7^{54}-8^{12}$	st., ncht.	a. c.	18′	60,8	54,98	18	3,80	16,60	79,60	4,40
66	7.	„ $10^{41}-10^{58}$	st.	1^h	17′	63,4	57,24	20	4,05	16,53	79,42	4,44
67	7.	„ $11^{42}-11^{56}$	st.	2^h	14′	72,7	65,86	20	3,72	16,98	79,30	3,955
68	7.	nmt. $12^{17}-12^{32}$	st.	3^h	15′	75,7	68,09	20	3,58	17,01	79,41	3,955
[69	7.	„ $3^{57}-4^{18}$	st.	1^h	21′	65,6	59,27	20	4,13	16,46	79,41	4,505
70	7.	„ $4^{23}-4^{40}$	st., 12′ wkd.	2^h	17′	70,5	63,53	17	4,09	16,33	79,58	4,68
71	7.	ab. $9^{25}-9^{44}$	st.	1^h	19′	78,7	70,9	20	3,74	16,79	79,47	4,19
72	7.	„ $12^{40}-12^{54}$	st.	4^h	14′	71,0	64,31	19	3,68	16,85	79,47	4,13
73	7.	mrg. $4^{31}-4^{47}$	st.	8^h	16′	64,8	58,98	18	3,70	16,82	79,48	4,163

Dieser gewaltige Unterschied des O_2-Verbrauches eines auf hartem Boden stehenden und eines auf Streu befindlichen Tieres

Kanülenversuche.

Heu und 2,50 kg Melasse.

CO_2-Ausscheidung			O_2-Verbrauch			R.Q.	Calorien			Tiergewicht	Bemerkungen
pro Tier und Min.	pro Min. und kg	pro Min. und qm	pro Tier und Min.	pro Min. und kg	pro Min. und qm		pro Tier und Min.	pro Min. und kg	pro Min. und qm		
1547	2,9	238	1882	3,6	289	0,82	9,209	0,0175	1,415	525	
1612	3,1	248	2000	3,8	307	0,806	9,768	0,0186	1,501	525	Frißt von 6^{10} bis 6^{40} 3 kg Heu, 1,136 kg Melasse + 3 l Wasser.
1488,5	2,8	228	1757	3,3	269	0,847	8,646	0,0164	1,323	528	Futter. Vgl. Tab. VIII, S. 187.
1575,0	3,0	241	1993	3,7	305	0,79	9,697	0,0184	1,484	528	
1537	2,9	236	1965	3,7	302	0,78	9,543	0,0182	1,466	525	
1503	2,8	230	1841	3,5	281	0,816	9,008	0,0170	1,375	530	
1709	3,2	261	2055	3,9	314	0,83	10,077	0,0189	1,539	530	
1837	3,5	281	2215	4,2	338	0,83	10,859	0,0205	1,658	530	
1548	3,0	238	1940	3,7	299	0,80	9,457	0,0180	1,457	523	
1518	2,9	232	1846	3,5	282	0,82	9,033	0,0170	1,379	530	Wiederkauen bei dieser Fütterung viel seltener, 3 Abende von 8^{00} bis 12^{00} vergebens gewartet.
1488	2,8	227	1746	3,3	267	0,85	8,592	0,0162	1,312	530	
1676	3,2	256	1960	3,7	299	0,885	9,663	0,0182	1,474	531	
1438	2,7	219	1727	3,3	263	0,833	8,466	0,0159	1,291	531	
1471	2,8	224	1827	3,4	278	0,805	8,923	0,0168	1,359	532	
1459	2,7	222	1793	3,4	273	0,814	8,757	0,0165	1,334	532	
1428	2,7	220	1812	3,5	280	0,788	8,816	0,0169	1,360	522	
1414,5	2,7	218	1774	3,4	274	0,797	8,648	0,0166	1,334	522	
1428	2,7	220	1790	3,4	276	0,798	8,726	0,0167	1,346	522	
1850	3,5	285	2126	4,1	328	0,882	10,520	0,0202	1,623	522	
1456	2,8	224	1741	3,3	268	0,836	8,551	0,0163	1,316	524	
1463	2,8	225	1724	3,3	265	0,849	8,483	0,0162	1,305	524	
1410,5	2,7	217	1627	3,1	251	0,866	8,039	0,0154	1,238	523	
1456	2,8	224	1728	3,3	266	0,84	8,487	0,0162	1,308	523	
1347	2,6	206	1706	3,2	261	0,79	8,301	0,0157	1,271	528	
2087	3,3	284	2359	3,7	321	0,885	11,694	0,0186	1,591	630	Futter 7 kg Heu, 2 kg Schrot, 25 kg Rüben; 3 kg Heu und 10 kg Rüben vorher gefressen. Kaut wieder 11^{09} bis 11^{38}.
2835	4,4	381	2894	4,5	388	0,98	14,585	0,0227	1,958	643	
2418,6	3,8	325	2524	3,9	339	0,96	12,674	0,0197	1,701	643	
2006	3,2	274	2264	3,6	309	0,89	11,223	0,0179	1,530	628	
2456,4	3,8	330	2506	3,9	337	0,98	12,630	0,0197	1,699	641	Frißt bis 9^{45} 3 kg Heu, 9^{50} bis 10^{30} 10 kg Rüben. Kaut wieder von 10^{45} bis 11^{05}.
2310	3,6	311	2588	4,0	348	0,893	12,829	0,0200	1,726	641	
2117	3,4	288	2371	3,8	323	0,86	11,689	0,0186	1,591	630	
2073	3,3	282	2419	3,8	329	0,86	11,925	0,0189	1,623	630	Hört 9^{45} mit Fressen auf.
2301	3,7	313	2541	4,0	346	0,905	12,643	0,0201	1,720	630	
2419	3,8	329	2593	4,1	353	0,933	12,949	0,0206	1,762	630	Hat vor Versuch wiedergekaut.
2417	3,8	329	2693	4,3	366	0,898	13,375	0,0212	1,820	630	
2430	3,9	331	2670	4,2	363	0,911	13,285	0,0211	1,808	630	Hört 2^{30} zu fressen auf; hat vor diesem Versuch wiedergekaut (3 kg Heu, 10 kg Rüben).
(2579)	4,1	351	(2974)	4,7	405	0,868	14,689	0,0233	1,999	630	
2630	4,2	358	2971	4,7	404	0,885	14,728	0,0234	2,004	630	Abendfutter 1 kg Heu, 5 kg Rüben, 2 kg Schrot.
2347	3,7	319	2656	4,2	361	0,884	13,142	0,0209	1,788	630	
2164	3,4	294	2455	3,9	334	0,881	12,148	0,0193	1,653	630	

läßt eine wichtige Schlußfolgerung für die Praxis zu. Man kann besonders in Abmelkwirtschaften und Mastställen beobachten,

daß die Tiere eng zusammengepfercht auf hartem, eventuell nur mit etwas Sägemehl bestreutem Boden, stehen. Dazu kommt häufig noch, daß man besonders Masttieren absolut keine Klauenpflege angedeihen läßt, so daß sich die Klauen zu Schnabelschuhen auswachsen. Solche Tiere sind gezwungen, mit den Ballen aufzutreten, wodurch schmerzhafte Erkrankungen der Klauen und Ballen entstehen, so daß nicht nur das Gehen beinahe zur Unmöglichkeit wird, sondern auch das Stehen. Es ist ohne weiteres verständlich, daß bei solchen Tieren das Stehen einen gewaltigen Mehraufwand bedingt. Wenn nun dieser Mehraufwand durch die teuren, eiweißreichen Kraftfuttermittel bestritten werden muß, während er bei guter Streu vermieden wird und dadurch eine entsprechende Menge Nahrung dem Fettansatz zugute kommt, so dürfte es wohl rationeller sein, die wenigen Pfennige, die die Unterhaltung eines Streulagers kostet (zumal auch dieses Material als Dünger einen Wert besitzt), ebenso die geringen Kosten einer Klauenpflege aufzuwenden.

Aber auch bei den wissenschaftlichen Stoffwechselversuchen an Rindern ist diese Beobachtung in Rechnung zu stellen. Es war bis jetzt bei solchen Versuchen üblich, die Tiere auf einen glatten, reinen, aber harten Boden (gewöhnlich Zement oder Holzboden) zu stellen (Armsby benutzt einen mit einer Gummilage bekleideten Holzboden, wir einen mit dickem Linoleum beschlagenen Holzboden), um ja jeden Verlust von Harn und Kot zu vermeiden, während die Tiere vorher und nachher wieder auf Streu gestellt werden. Auch bei dieser Methodik wird ein etwas zu niedriger Fettansatz gefunden. Der Wert eines Futtermittels wird also zu niedrig befunden. Da der Fleischansatz mit dem Fettansatz einigermaßen proportional geht, wird wohl auch der Fleischansatz beeinträchtigt.

Angenommen, es würde der Sauerstoffverbrauch des stehenden Rindes durch bequemeres Stehen und Ausschaltung unkoordinierter Bewegungen um 15 % sinken und es würde das Tier von 1440 Minuten 780 Minuten stehen (Werte, wie wir sie bei unsern Versuchen gefunden haben), so würden ca. 220 l O_2 weniger verbraucht werden und dadurch, soweit es sich um Verbrauch von Körperfett handelt, 115 g Fett geschont werden, oder bei der Mast eine entsprechende Menge Futter erspart werden.

Die Beobachtung, die hier zahlenmäßig zum Ausdruck kommt, findet sich in einem Volksspruch, dem auch viele verständige Züchter und Tierhalter huldigen: „Eine gute Streu ist das halbe Futter.“

Die praktischen Mästungsversuche der letzten Jahre, besonders die von Schneidewind (Halle), haben wahrscheinlich gemacht, daß die Kellnerschen Mastrationen zu hoch bemessen sind. Das dürfte zum Teil darin seinen Grund haben, daß Kellners Tiere unter den Bedingungen des Stoffwechselversuchs einen abnorm hohen Stoffverbrauch hatten. Der überraschende Befund Kellners, daß gemästete Tiere einen annähernd der Gewichtszunahme entsprechenden Mehrverbrauch haben, trotzdem die angemästete Substanz wesentlich inertes Fett ist, findet wohl auch durch meine Versuche eine befriedigende Erklärung. Die fetten Tiere haben einen Mehrverbrauch im Stehen, weil die Muskulatur der Beine nicht dem schweren Rumpf angepaßt ist.

Ganz anders als das Rind verhält sich das Pferd. Aus den Zuntzschen Pferdeversuchen geht hervor, daß zwischen dem liegenden und stehenden Pferd absolut kein Unterschied besteht, ja sogar eine Last von 100 kg vermochte bei Pferden vom Reittiertypus den Sauerstoffverbrauch nicht zu steigern. Dieser Unterschied zwischen Rind und Pferd findet seine Erklärung darin, daß das Pferd mit einem Bandapparat ausgestattet ist, durch den ein Stehen ohne jede Muskeltätigkeit und dadurch bedingten Mehraufwand möglich ist.

Bei Heumelassefütterung (Tabelle X und XI, S. 191) beträgt die Wärmesteigerung beim auf der Tretbahn stehenden Tier gegenüber dem liegenden (das allerdings in diesem Falle nicht schlief) durchschnittlich 21,7 %. Es ist klar, daß die Werte schwanken müssen, denn sowohl beim stehenden Tiere, wie beim liegenden wechselt die Beanspruchung der Muskeln. So lag das Tier bei den Versuchen mit dem niedrigsten Verbrauch mit dem Kopf auf dem Boden und schlief, während es in den anderen Versuchen mit erhobenem Kopfe sich hin und wieder ausstreckend dalag.

III. Respirationsversuche nach Regnault-Reiset, 4. VI. bis 16. VI. 1910.

Die folgenden 4 Versuche wurden $^1/_2$ Jahr vor den in Abschnitt II besprochenen ebenfalls zur Klärung der Frage, wie die mechanische Beschaffenheit des Futters den Energieumsatz beeinflußt, angestellt. Seit Mitte April 1910 hatte der Bulle ca. 7,5 kg Heu, 2 kg Schrot, 1 kg Leinkuchen täglich gefressen und hatte dabei an Gewicht bedeutend zugenommen. Er wog am 18. IV. 435,5 kg, am 25. V. 477 kg. Vom 26. V. ab erhielt er keinen Leinkuchen mehr und nur noch 1 kg Schrot. Vom 30. V. ab wurde auch die Heumenge auf 6 kg und vom nächsten Tag auf 5 kg reduziert, so daß jetzt die Nahrungsaufnahme wieder genau der ersten Dahmschen Versuchsreihe entspricht, während das Körpergewicht inzwischen von 238 kg auf 472 kg gestiegen war. Das Körpergewicht, das am 26. V. 472 kg betrug, stellte sich am 2. VI. auf 474 kg, am 3. VI. auf 469 kg, am 4. VI. wurde der erste Respirationsversuch im Kasten, der sich auf 24 Stunden erstreckte, angestellt.

Morgens gegen $7^1/_2$ Uhr wurde das Tier in den mit Frischluft ventilierten Respirationskasten[1]) geführt, wo es alle seine Mahlzeiten erhielt. Mittags 2 Uhr wurde der Kasten geschlossen und die Luftzirkulation durch den Absorptionsturm in Gang gesetzt. Um 3 Uhr 30 Minuten waren die Temperaturverhältnisse konstant geworden, so daß dem Beginn des Versuches nichts mehr im Wege stand. Es wurden an den Thermometern folgende Daten abgelesen:

Erdgeschoß, trocken	20,2°
Erdgeschoß, feucht	13,3°
Keller, trocken	+ 0,7°
Keller[2]), feucht	— 1°.

Barometer 755,8, die Wasserdampftension 7,9 mm, Gasdruck 747,9 mm. Luftvolum 86,93 cbm reduziert 79,83 cbm. Die Analyse der Kastenluft ergab 0,05 % CO_2, 20,36 % O_2, 79,56 % N_2, 0,029 % CH_4.

[1]) Eine eingehende Beschreibung des Apparates und seiner Handhabung findet sich in den Landwirtschaftlichen Jahrbüchern **1913**, 777 ff.

[2]) Die gewaltigen Temperaturunterschiede zwischen Erdgeschoß und Keller in diesem und in folgenden Versuchen sind darauf zurückzuführen, daß vor Beginn des Versuches die Kältemaschine in Gang gesetzt worden war. Diese niedrige Temperatur des nach dem Verlassen des Kälte- und Laugeturms wieder in den Kasten eintretenden Luftstromes hat $^1/_{26}$ der ganzen Luftmasse des Systems. Dementsprechend findet die Reduktion auf 0° und 760 statt.

Nach 24 Stunden wurde der Versuch beendet, wobei nachstehende Temperaturen abgelesen wurden:

Erdgeschoß, trocken	20,2°
Erdgeschoß, feucht	12,8°
Keller, trocken	— 1,4°
Keller, feucht	— 1,5°.

Die Analyse des Endgases ergab 0,06% CO_2, 17,70% O_2, 82,01 % N, 0,23% CH_4. Gesamtinhalt des Kastens 86,90 cbm, reduziert 79,39 cbm.

An Stickstoff fanden sich nach der Schlußanalyse 1610 l mehr, die auf unbekanntem Wege in den Kasten eingedrungen waren, damit 420 l O_2. Verzehrt waren aus dem Sauerstoffvorrat des Kastens 2186 l, so daß der Gesamtverbrauch des Tieres 2606 l O_2 beträgt. Die Kohlensäure wurde von Herrn Dr. von der Heide wie in allen Regnault-Reiset-Versuchen durch Analyse der Lauge am Anfang und am Schluß bestimmt und ergab 2832,4 l R.Q. = 1,087.

Nach dem Versuch vom 5. VI. wurde sofort die Heuration beschränkt und dafür mehr Schrot gegeben. Seit 5 Tagen hat das Tier täglich 1,5 kg Heu und 2,5 kg Schrot gefressen. Dabei verhielt sich das Körpergewicht wie folgt:

am 5. Juni	456,0 kg	443,7 kg als mittleres Versuchsgewicht.
„ 6. „	455,0 „	
„ 7. „	458,0 „	
„ 8. „	453,5 „	
„ 9. „	448,2 „	
nach dem Versuch:		
am 11. Juni	440,2 kg	
„ 12. „	442,5 „	
„ 13. „	442,5 „	
„ 14. „	442,7 „	
„ 15. „	442,2 „	
„ 16. „	441,5 „	
„ 17. „	442,5 „	
„ 18. „	440,7 „	

Das Tier scheint also, nachdem der Heubauch geschwunden war, mit der neuen Nahrung annähernd seinen Bedarf bestritten zu haben.

Der Bulle wurde am 10. VI. gegen 8 Uhr morgens in den durch die große Gasuhr gut ventilierten Respirationskasten gebracht und erhielt dort um $8^1/_2$ Uhr seine Morgenmahlzeit von 0,75 kg Heu mit etwa 1,20 kg Schrot und 12,2 kg Tränkwasser.

Um 9^{28} Uhr wurde der Kasten geschlossen und zunächst die Ventilation mit stündlich 72 cbm Frischluft fortgesetzt. 9^{47} Uhr wurde mit Kühlung des Kälteturms begonnen, 9^{41} Uhr begann die Zirkulation der Luft durch diesen Turm und die Durchmischung der Kalilauge. 10^{14} Uhr wurde die Gasuhr stillgestellt und die Kommunikation mit der Außenluft gesperrt. Für die Abnahme des Druckes infolge der Kühlung der Luft wurde aus dem Kubizierapparat mehrmals ein gemessenes Luftquantum in den Apparat eingefüllt. Von 10^{15} Uhr bis 11^{22} Uhr im ganzen 668 l. 11^{27} Uhr wurden vor und hinter dem Kälteturm die Luftproben zur Analyse entnommen. 11^{30} Uhr Ventilator und Laugenpumpe stillgestellt und die Kalilauge zur Analyse entnommen. In diesem Augenblick war der Barometerstand auf 0^0 reduziert 753,6 mm. Der Druck im Kasten war, am Wassermanometer gemessen, im Moment der Entnahme der Luftproben gleich dem Außendruck. Das Thermobarometer im Kasten stand auf 23,35, die Temperatur betrug:

am Kastenthermometer	21,6°
in der austretenden Luft	21,5°
ebenda, feuchtes Thermometer	12,9°
jenseits des Kälteturms	— 1,8°
ebenda, feuchtes Thermometer . . .	— 2,8°
jenseits des Ofens	+ 10,05°.

Während des ganzen Versuches wurde die Kühlung im Turm und die Erwärmung der Luft im Ofen so reguliert, daß das Manometer nur um 2 mm nach oben und unten um den Nullpunkt schwankte. Abends 6^{44} Uhr erhält der Bulle den Rest seines Futters durch die Schleuse. Das Futter wird rasch aufgenommen, und bald nachher beginnt Wiederkauen. Am anderen Morgen 9^{25} Uhr erhält das Tier 0,75 kg Heu, 1,25 kg Schrot, 3 kg Wasser. Um 9^{40} Uhr ist das Futter im wesentlichen aufgefressen.

Während des Versuches wird noch wiederholt, wenn das Manometer Unterdruck im Kasten anzeigt, Luft in den Apparat eingelassen, und zwar:

um	1^{47}	Uhr	mittags	74 l
„	5^{52}	„	nachmittags	85 l
„	10^{45}	„	abends	60 l
„	12^{57}	„	nachts	116 l
„	3^{9}	„	nachts	85 l
„	7^{15}	„	morgens	19 l
„	8^{14}	„	morgens	81 l
„	10^{17}	„	morgens	10 l
„	10^{45}	„	vormittags	53 l
„	10^{00}	„	vormittags	20 l
			im ganzen . .	**603** l

11^{30} Uhr wurden die Analysenproben aus der Ventilationsleitung vor und hinter dem Turm und ferner zur Kontrolle der Gleichmäßigkeit der Luftmischung im Apparat gleichzeitig 3 Proben von verschiedenen Stellen des Kastens genommen, und zwar:

von der Decke in der Mitte . .	mit	0,0595 % CO_2,	0,221 % CH_4
von der Decke vorn	mit	0,089 % CO_2,	0,201 % CH_4
vom Boden ganz hinten	mit	0,0778 % CO_4,	0,219 % CH_4

Dagegen gab die gleichzeitig aus dem Ventilationsstrom vor dem Kälteturm entnommene Luft[1] . . . . 0,0765 % CO_2, 0,2118 % CH_4
Die nach Passieren des Turmes genommene Luft . . . . 0,0395 % CO_2, 0,2235 % CH_4

Die Analysen der gestern genommenen Anfangsluft ergaben folgende Zahlen:

Vor dem Absorptionsturm . . . . . 0,032 % CO_2 u. 0,055 % CH_4
0,030 % CO_2

Mittel . . 0,031 % CO_2 u. 0,055 % CH_4
Hinter dem Absorptionsturm . . . . 0,0295 % CO_2 u. 0,0545 % CH_4

Die gesamte vom Tier gelieferte Methanmenge berechnet sich wie folgt: Am Schlusse des Versuchs, 11. VI. 11[20] Uhr, betrug der Prozentgehalt an Methan,

berechnet aus der daraus gebildeten CO_2 . . . 0,2153 %
der Anfangswert am 10. VI. 11[27] Uhr betrug . 0,0548 %
also 0,1605 %

vom Tier in 1433 Minuten geliefert.

Nach dieser ausführlichen Darlegung der Verteilung der Kohlensäure und des Methans folgen nun die übrigen analytischen Daten. Das Barometer stand zu Beginn auf 753,6 mm, die Wasserdampftension betrug 5,7, der Gasdruck 747,9 mm. Hieraus und aus der Durchschnittstemperatur von 20,81 °C reduziert sich die Luftmasse von 86,98 cbm auf 79,52 cbm. Die Analysen des Anfangsgases: 0,032 % CO_2, 20,58 % O_2, 79,333 % N, 0,055 % CH_4. Das Barometer stand am Ende auf 751,5 mm, Wasserdampftension 7,06 mm, Gasdruck 744,4 mm; reduzierte Luftmasse 79,20 cbm. Die Analysen des Endgases ergaben 0,01 % CO_2, 18,15 % O_2, 81,625 % N, 0,2153 % CH_4.

Daraus berechnet sich ein Verbrauch von 2406 l O_2. Diese Menge setzt sich folgendermaßen zusammen:

1. aus der Verringerung des Kastensauerstoffes . . 1977 l
2. mit hineingepreßter Außenluft . . . . 122 l
3. mit Außenluft eingedrungen . . . . 294 l
4. für 7 Minuten, die an 24 Stunden fehlen . . . 12 l

Ferner wurden gebildet:

2371,7 l Kohlensäure
127,0 l Methan.

Respiratorischer Quotient 0,98.

---

[1]) Die hier gefundene, allerdings sehr geringe Ungleichmäßigkeit in der Zusammensetzung der Luft verschiedener Stellen des Respirationskastens gab Anlaß zur Aufstellung zweier Flügelventilatoren im Innern des Kastens; dadurch wurden diese Unregelmäßigkeiten vollkommen beseitigt. (Vgl. L. J. 44, S. 782.)

Bei dem gleichen Futter fand am 23. VI. ein zweiter Respirationsversuch statt. Das Tier hatte die ganze Zeit sein Gewicht unverändert behalten und wog 442 kg.

10^{21} Uhr wurde der Kasten geschlossen und die Ventilation und Kältemaschine in Gang gesetzt. 12^{8-10} Uhr erfolgte die Gasprobenentnahme, 12^{10-13} Uhr die Laugeprobenentnahme. An den Thermometern wurden folgende Daten abgelesen:

Erdgeschoß, trocken	16,9°
Erdgeschoß, feucht	9,5°
Keller, trocken	—0,3°
Keller, feucht	—2,5°

Das Barometer zeigte 754,2 mm, die Wasserdampftension 5,21 mm, der Gasdruck 748,99 mm. Das Kastengas setzte sich zusammen aus 0,04% CO_2, 20,49% O_2, 79,41% N, 0,057% CH_4.

Nach 24 Stunden 44 Minuten wurden die Endproben genommen. In diesem Moment wurden folgende Thermometerablesungen notiert:

Vor dem Absorptionsturm trocken	16,15°
„ „ „ feucht	9,2°
Hinter dem Absorptionsturm trocken . . .	—0,7°
„ „ „ feucht . . .	—1,2°

Barometerstand 750,93 mm, W. D. T. 5,58 mm, Gasdruck 745,35 mm.

Die Analyse der Kastenluft zu Beginn ergab 0,04% CO_2, 20,49% O_2, 79,41% N, 0,0638% CH_4.

Die Analyse des Endgases ergab 0,09% CO_2, 17,80% O_2, 81,90% N, 0,213% CH_4.

Aus dem Gasometer wurden 891 l Luft mit 173,2 l O_2 (reduziert) und 655,5 l N (reduziert) eingelassen. Eingedrungen in den Apparat sind 1051,1 l N mit 277,8 l O_2. Der Sauerstoffvorrat des Apparates hatte sich um 2204 l vermindert, so daß also der Gesamtverbrauch in 1484 Minuten 2655 l O_2, reduziert auf 1440 Minuten = 2576,4 l betrug. In der Lauge fanden sich 2441 l CO_2, dazu kommen noch 40 l aus der Kastenluft, insgesamt also 2481 l reduziert auf 1440 Minuten = 2407,5 l CO_2. R.Q. 0,94, an Methan 120,6 l, oder in 1440 Minuten = 117,0 l.

Vom 24. VI. ab wurden dem Tier wieder 5 kg Heu und 1,0 kg Schrot verabreicht und das Tier nahm ständig an Gewicht zu und erreichte am 11. VII., dem Tage des 4. Versuches, 460 kg.

Morgens um $7^1/_4$ Uhr kam das Tier in den Kasten, der alsbald geschlossen und bis 11^{54} Uhr mit Frischluft ventiliert wurde. Um 1^6 Uhr begann nach den Ablesungen der Thermometer und nach der Probeentnahme der Kastenluft und der Lauge der Versuch. Die Thermometer zeigten

vor dem Absorptionsturm trocken	17,3°
„ „ „ feucht	10,5°

hinter dem Turm trocken . . . . — 1°

" " " feucht . . . . — 2°

Die Kastenluftanalysen ergaben folgende Werte:

Zu Beginn 0,052% CO_2, 20,568% O_2, 79,34% N, 0,04% CH_4.

Am Schluß 0,08% CO_2, 17,98% O_2, 81,72% N, 0,2186% CH_4.

Der Kastenvorrat an Sauerstoff hatte um 2093 l abgenommen. Eingelassen wurden aus dem Gasometer 2057 l Luft, damit 386 l O_2 (reduziert) und 1431 l N (reduziert!). Am Schluß waren ausgesaugt 142 l Luft mit 23,7 l O_2 (reduziert) und 107 l N, so daß 362,3 l Sauerstoff der Kastenluft zugefügt wurden. An Stickstoff waren demnach 1431 — 107 = 1324 l hineingepreßt. Aus der Berechnung auf Grund der Analysen ergab sich eine Anreicherung von 1867 l N im Kasten, so daß noch 543 l N auf unbekanntem Wege und damit 143,4 l Sauerstoff eingedrungen sind. Der Gesamt-Sauerstoffverbrauch berechnet sich für 1434 Minuten auf 2598,7 l, also für 1440 Minuten 2610 l. An Kohlensäure wurden in 1440 Minuten 2760 l ausgeschieden. R. Q. 1,057. Die Methanmenge belief sich auf 146,3 l. In nachfolgender Tabelle XIII sind die Ergebnisse der 4 Versuche zusammengestellt.

Tabelle XIII.

Regnault-Reiset-Versuche.

a) mit rohfaserreichem Futter.
Tagesfutter: 5 kg Heu, 1,0 kg Schrot.

Datum 1910	Versuchstemperatur °C	CO_2-Ausscheidung l	O_2-Verbrauch l	R.Q.	CH_4-Produktion l	Sauerstoffverbrauch pro kg und Min.	Wärmeproduktion [1]) Cal	cal [1]) pro 1 kg und Min.	Cal [1]) pro 1 qm und Min.	Liegezeiten Min.	Körpergewicht kg
4. VI.	20,2	2832	2606	1,087	158,4	3,97	12,587	19,17	—	489	456
11. VII.	17,3	2760	2610	1,057	146,3	3,94	12,606	18,99	—	426	460
Mittel	**18,8**	**2796**	**2608**	—	**152,4**	**3,955**	**12,597**	**19,08**	**14,72**	**458**	**458**

b) mit rohfaserarmem Futter.
Tagesfutter: 1,5 kg Heu und 2,5 kg Schrot.

Datum 1910	Versuchstemperatur °C	CO_2-Ausscheidung l	O_2-Verbrauch l	R.Q.	CH_4-Produktion l	Sauerstoffverbrauch pro kg und Min.	Wärmeproduktion [1]) Cal	cal [1]) pro 1 kg und Min.	Cal [1]) pro 1 qm und Min.	Liegezeiten Min.	Körpergewicht kg
10. VI.	21,0	2371,7	2406	0,98	127,0	3,81	11,621	18,34	—	625	440
23. VI.	16,6	2407,0	2576	0,94	117,0	4,07	12,442	19,55	—	433	442
Mittel	**18,8**	**2389,0**	**2491**	—	**122,5**	**3,94**	**12,032**	**18,95**	**14,42**	**529**	**441**

[1]) Die Calorien sind in beiden Versuchen unter der Annahme berechnet, daß die den Oxydationsprozessen in den Geweben zugehörige Kohlensäure den respiratorischen Quotienten 0,84 ergeben würde, entsprechend den für die Lungenatmung gefundenen Werten. Wie S. 215 ausgeführt, entsprechen diesem Quotienten 4,830 Cal auf 1 l Sauerstoff.

Vergleichen wir nun zuerst den Sauerstoffverbrauch aus den Mitteln beider Versuchsreihen, so wurde zwar in der rohfaserreichen Periode etwas mehr verbraucht; doch ist dieser Unterschied nicht groß genug, um daraus einen nennenswerten Einfluß der mechanischen Beschaffenheit des Futters auf den Energieumsatz zu folgern, zumal dieser Unterschied noch kleiner wird, wenn wir den Verbrauch vom 10. VI. mit 625 Minuten Liegezeit auf den höheren Verbrauch bei 433 Minuten (wie am 23. VI.) reduzieren.

Nach den Ausführungen S. 184 können wir den Mehrverbrauch im Stehen pro Minute auf 24% von 3,6 ccm O = 0,9 ccm einschätzen. Das macht für 192 Minuten bei 440 kg Gewicht 76,0 l O. Der Verbrauch am 10. VI. würde also bei 433 Minuten Liegen auf 2482 l steigen. — Im Mittel hat das Tier in der Reihe b 71 Minuten mehr gelegen, dafür wäre der Mittelwert dieser Reihe um 28 l auf 2519 l Sauerstoffverbrauch zu erhöhen. Der nun noch bleibende Mehrverbrauch der Heuperiode von 89 l Sauerstoff erlaubt uns keine einwandfreien Schlüsse über die Einwirkung des rohfaserreichen Futters auf die Arbeitsleistung des Darmkanals, denn dieser Mehrverbrauch ist kleiner als der für die Differenz im Liegen korrigierte Unterschied der beiden Versuche bei Schrotfütterung, der 94 l beträgt und, abgesehen von möglichen Versuchsfehlern, auf ungleiche Muskeltätigkeit zu beziehen ist. Wenn wir aber die 89 l Mehrverbrauch als wirklich durch die verschiedene Fütterung bedingt ansehen, müssen wir sie analog den Erfahrungen bei anderen Tierklassen zum großen Teil darauf beziehen, daß in Periode a mehr Nahrung verdaut wurde.

Laut Tabelle XIVa und b beträgt dieses Plus 86,6 g Protein, 24,0 g Fett und 738,4 g Kohlenhydrate. Nun entspricht jedem Gramm verdauter Nahrung

bei Eiweiß . . .	eine Steigerung um	0,7 Cal,	also	hier	60,6 Cal
„ Fett	„ „ „	0,24 „	„	„	5,8 „
„ Kohlenhydrat .	„ „ „	0,38 „	„	„	280,6 „
					347,0 Cal

Da bei diesen Versuchen (vgl. S. 215) 1 l Sauerstoff 4,83 Cal erzeugt, bedingt das Mehr an verdauten Nährstoffen eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs um 72 l. Nun kommt als weiteres den Verbrauch steigerndes Moment die Kauarbeit in Betracht. Nach Dahms Beobachtungen (l. c. S. 496) hat das Tier bei der rohfaserreichen Portion täglich 32 Minuten mehr auf Kauen und 84 Minuten mehr auf Wiederkauen der Nahrung verwendet. Er fand den Verbrauch einer Minute durch Kauen bei 220 kg Gewicht um 7,6 cal pro 1 kg, also im ganzen um 1,67 Cal, durch Wiederkauen bei 243 kg Gewicht um 2,9 cal = 0,705 Cal gesteigert.

Aus meinen Versuchen an dem inzwischen auf fast das $2^1/_2$fache Gewicht herangewachsenen Tier ergeben sich folgende Werte:

Für Kauen . . . aus Tab. I u. III 7,3 cal bei 530 kg = 3,87 Cal pro Min.
„ Wiederkauen „ „ II u. IV 3,0 „ „ 537 „ = 1,61 „ „ „
Beide Minutenwerte sind also in etwas geringerem Maße als das Körpergewicht gewachsen.

Natürlich kommen hier nur meine Werte in Betracht; sie lassen in der Heuperiode eine Steigerung des Energieverbrauchs erwarten

für Kauen . . . um 32 × 3,87 = 123,8 Cal
„ Wiederkauen „ 84 × 1,61 = 135,2 „
259,0 Cal

entsprechend 54 l Sauerstoff.

Aus beiden Momenten zusammen berechnet sich also eine Steigerung des O-Verbrauchs um 126 l, während faktisch nur eine solche um 89 l beobachtet wurde. — Eine Steigerung des Energieverbrauchs durch die den Darm passierende Rohfaser über den durch die gewöhnliche Verdauungsarbeit und das Kauen bedingten Wert ist also nicht nachweisbar.

Die Wärmeproduktion ist dem Sauerstoffverbrauch proportional berechnet. (Annahme des gleichen respiratorischen Quotienten für den eigentlichen Stoffwechsel in beiden Reihen.) Die Berechnung des Verbrauchs auf 1 qm und Minute oder auch auf 1 kg Lebendgewicht und Minute, wobei der Unterschied ganz verschwindet, weil das Tier in der rohfaserreichen Periode schwerer war, ist unberechtigt, da die Gewichtszunahme nur auf Bauchfüllung beruht, also keine Änderung der lebendigen Körpermaße bedeutet.

Dagegen wird die Kohlensäurebildung und die Methanausscheidung in der rohfaserreichen Periode gewaltig gesteigert, die erstere um 17%, letztere um 24%. Dieses Mehr an Kohlensäure und Methan ist wohl nur auf die verstärkte Gärung infolge der größeren Menge von Cellulose zurückzuführen. Dieses Beispiel läßt sehr schön erkennen, welch einen Irrtum man beginge, wollte man die gesteigerte Kohlensäureausscheidung mit einer ebenso großen Steigerung des Energieumsatzes in Verbindung bringen.

Für eine direkte Berechnung der Stoff- und Energiebilanz in der Weise, wie sie Kellner auf Grund der Kohlensäurebestimmung und wie wir sie unter Berücksichtigung des Sauerstoffs und der Kohlensäure bei dem Studium über den Nährwert der Schlempe und Kartoffeln[1]) ausgeführt haben, konnte

[1]) von der Heide, Klein und Zuntz, Respirations- und Stoffwechselversuche am Rinde über den Nährwert der Kartoffelschlempe und ihrer Ausgangsmaterialien. Landw. Jahrb. **1913**, S. 765.

ich die Unterlagen nicht vollständig beschaffen, weil der Harn bereits zersetzt war. Wir können aber entsprechend der in jener unserer Arbeit S. 814 ausgeführten Rechnung aus der Futtermittelanalyse und der Bilanz der Einnahmen und Ausgaben die Sauerstoff-, Kohlensäure- und Energiebilanz mit hinreichender Genauigkeit berechnen. Die dort berechneten Unterlagen habe ich in Tab. XV, S. 211 zusammengestellt.

1. Berechnung des Energieumsatzes aus der elementaren Zusammensetzung der Einnahmen und Ausgaben.

Bei den Respirationsversuchen von Dahm wurde, wie bereits erwähnt, je ein Stoffwechselversuch mit rohfaserreicher und rohfaserarmer Kost ausgeführt. Von diesem Versuch hat Dahm nur die N-Bilanz fertiggestellt und S. 464 seiner Abhandlung veröffentlicht. Die weitere Analyse der Nahrung und Ausscheidungen wurde von Dr. von der Heide durchgeführt, der mir die Zahlen zur Verfügung stellte. Dieselben finden sich in Tabelle XIV und sind in den nachfolgenden Tabellen XIV a und b zur Berechnung der beiden Stoffwechselversuche benutzt worden. Selbstverständlich konnte das fast doppelt so schwer gewordene Tier zur Zeit meiner Versuche mit dem Futter nicht mehr auskommen. Man darf aber wohl annehmen, daß die Verdauungsverhältnisse des von jener Zeit aufbewahrten Heues und Schrotes, die wir während der R.-R.-Versuche verfütterten, dieselben geblieben sind. Unter dieser Annahme sind die Tabellen XVI a und b berechnet. Der bei den Dahmschen Versuchen sehr erhebliche Proteinansatz dürfte bei meinen Versuchen einem annähernden Gleich-

Tabelle XIV.

Analytische Daten zu Dahms Stoffwechselversuchen im Sommer 1909.
I. rohfaserreiche Periode: 5 kg Heu, 1 kg Schrot + 15 g NaCl.
II. rohfaserarme Periode: 1,5 kg Heu, 2,5 kg Schrot + 15 g NaCl.

Substanz	Wasser %	Trockensubstanz %	Asche %	Organ. Substanz %	Roh-Protein $N_2 \times 6,25$ %	Fett %	Rohfaser %	N_2-freie Extraktstoffe %	cal pro 1 g
Heu . . .	12,95	87,05	6,3	80,75	8,188	2,39	33,45	36,722	4000,0
Schrot . .	15,2	84,8	2,085	82,715	7,875	1,61	2,96	70,27	3733,0
Kot I . .	8,86	91,14	12,14	79,0	10,22	4,59	30,8	33,39	4250,0
Kot II . .	9,33	90,67	8,24	82,43	11,81	5,43	30,4	34,79	4327,0

Tabelle XIV a.

I. Periode: Stoffwechselbilanz.

Substanz	Wasser g	Trocken-substanz g	Asche g	Organ. Substanz g	Roh-protein g	Fett g	Roh-faser g	N-freie Extrakt-stoffe g	Cal
5 kg Heu	647,5	4353	315,0	4038	409,4	119,5	1672,5	1836,1	20000
1 kg Schrot . . .	152,0	848	20,85	827,1	78,8	16,1	29,6	702,7	3733
Summe der Einnahmen . . .	799,5	5201	335,85	4865,1	488,2	135,6	1702,1	2538,8	23733
2,054 kg Kot (lufttrocken) . . .	182,0	1872,0	249,8	1622,2	209,4	94,28	632,7	685,8	8730
Verdaut	617,5	3329	86,0	3242,9	278,8	41,3	1069,4	1853,0	15003
Verdaut in % .	—	**64,01**	**25,61**	**66,6**	**57,2**	**35**	**62,8**	**72,9**	**63,2**
Harn	—	—	—	—	154,6	—	—	—	—
N_2 angesetzt . .	—	—	—	—	124,2	—	—	—	—

Tabelle XIV b.

II. Periode: Stoffwechselbilanz.

Substanz	Wasser g	Trocken-substanz g	Asche g	Organ. Substanz g	Roh-protein g	Fett g	Roh-faser g	N_2-freie Extrakt-stoffe g	Cal
1,5 kg Heu . . .	194,2	1305,8	94,5	1211,2	122,83	35,85	501,7	550,8	6000
2,5 kg Schrot . .	380,0	2120,0	52,1	2067,9	196,9	40,20	74,0	1757,0	9333
Summe der Einnahmen . . .	574,2	3425,8	146,6	3279,1	319,73	76,05	575,7	2307,8	15333
1,08 kg Trockenkot	100,48	979,3	89,0	890,3	127,55	58,65	324,4	375,7	4673
Verdaut	—	2446,5	57,6	2388,8	192,18	17,40	251,3	1932,1	10660
Verdaut in % .	—	**71,41**	**39,3**	**72,8**	**60,2**	**22,3**	**43,6** [1])	**82,5**	**69,5**
Harn	—	—	—	—	130,4	—	—	—	—
N_2 angesetzt . .	—	—	—	—	61,7	—	—	—	—

gewichtszustande Platz gemacht haben, da die Nahrung, wie wir gleich sehen werden (Tabelle XVI a, b), den Erhaltungsbedarf des Tieres nicht ganz deckte und außerdem die Tendenz zum Eiweißansatz mit zunehmendem Alter erheblich abgenommen

[1]) Auffällig ist die bedeutend geringere Ausnützung der Rohfaser in dieser Periode gegenüber der I. Periode. Da aber dieser rohfaserarmen Periode eine rohfaserreiche voranging, und da nur eine 4tägige Vorfütterung stattgefunden hatte, so ist nach unseren jetzigen Erfahrungen noch eine große Menge Rohfaser in diesen Kot gelangt, die noch aus der rohfaserreichen Periode stammt. So ist also die gefundene Rohfaser im Kot viel zu groß, und dadurch wird der Verdauungskoeffizient stark herabgedrückt. Bei einer solch gewaltigen Änderung im Futter ist eine wesentlich längere Vorfütterung nötig.

hatte. Unter der sicher nicht weit von der Wahrheit abweichenden Annahme, daß N-Gleichgewicht herrschte, läßt sich auf Grund der in Tabelle XIII zusammengestellten Versuche, in Verbindung mit der chemischen Analyse der Stoff- und Kraftwechsel des Tieres berechnen. Ich tue dies in derselben Weise, wie in den veröffentlichten Versuchen[1]). Nur eine der für die Berechnung nötigen Zahlen, die Verbrennungsdaten des Harns, konnte nicht mehr genau ermittelt werden und wurde deshalb auf Grund folgender Überlegung geschätzt. In den l. c. veröffentlichten Versuchen war S. 822 für eine spätere Lebensperiode unseres Versuchstieres bei reiner Heufütterung der Brennwert, der Sauerstoffverbrauch und die Kohlensäurebildung bei Verbrennung des Harnes festgestellt worden. Es ergab sich damals pro 1 g N eine Verbrennungswärme von 23 Cal (calorischer Quotient). Bei wesentlich eiweißreicherem Futter in der Periode 4 ging dieser Wert auf 19 Cal herunter, bei sehr reichlicher Zugabe von Kartoffeln resp. Stärke stieg er auf 31 Cal. Bei Zugabe von Schrot zum Heu werden wir keinen großen Fehler machen, wenn wir mit den Werten der Heuperiode vom April 1911 rechnen, d. h. annehmen, daß bei der Verbrennung des Harnes pro 1 g N 4,89 g CO_2 gebildet, 4,725 g O_2 verbraucht und 23,4 Cal erzeugt wurden. Da wir, wie schon erwähnt, annehmen dürfen, daß N-Gleichgewicht herrschte, ist die Ausscheidung im Harn

in der Heuperiode zu 278,83 g Protein = 44,6 g N,
" " Schrotperiode " 192,18 g " = 30,7 g N

zu schätzen. Hieraus ergibt sich mit obigen Zahlen

für die Heuperiode:

0,2107 kg O_2
0,2180 kg CO_2
1042 Cal;

für die Schrotperiode:

0,1421 kg O_2
0,1472 kg CO_2
707,5 Cal.

---

[1]) Landw. Jahrb. **1913**, 814.

Mit Hilfe dieser Daten, der in Tabelle XIII zusammengestellten vier Respirationsversuche und der in Tabelle XV zusammengestellten Konstanten gestaltet sich die Bilanz beider Perioden wie folgt:

Tabelle XV.

Bei der Verbrennung von 1 g Protein, Kohlenhydrate und Fett werden nachstehende Mengen O_2 verbraucht, CO_2 gebildet und Cal erzeugt.

Substanz	O_2 g	CO_2 g	cal
Protein	1,781	1,936	5700
Cellulose und Stärke .	1,187	1,629	4190 [1])
1 g Fett	2,845	2,790	9500

Tabelle XVIa.

I. Heureiche Periode.

	O_2 g	CO_2 g	Cal
5 kg Heu	5238,5	6842,0	18455,5
1 kg Schrot	1029,2	1390,1	3676,8
Summa der Einnahmen	6267,7	8232,1	22132,(3)
2,054 kg Trockenkot	2218,0	2817,0	8134,0
Verdaut	**4049,7**	**5415,1**	**13998,0**
CH_4 152,4 l	435,9	298,7	1451,5
Es bleiben	3613,8	5116,4	12546,5
4,736 kg Harn	210,7	218,0	1042,0
Es bleiben	3403,1	4898,4	11504,5
Respiration 2796 l CO_2, 2680 l O_2	3829	5494,0	—
Unterbilanz	426	595	—
Entspricht g Körperfett	123	211	—
Mittel	167		1586,5
Wärmeproduktion pro die	—	—	13091

Cal-Wert pro 1 g O = 3,419 Cal.

---

[1]) Diese Zahl gilt für den verdaulichen Teil der eigentlichen Kohlenhydrate und der Rohfaser. Kellner gibt in seinem Lehrbuch, S. 94, 5. Aufl. die Verbrennungswärme der Rohfaser

des Heues . . . . zu 4426 Cal an
die des Kotes . . . . . . zu 4782 „ „
die der verdauten Rohfaser zu 4190 „ „

Diese Werte sind in den beiden nachfolgenden Tabellen verwendet.

Tabelle XVIb.

II. Heuarme Periode.

	O_2 g	CO_2 g	Cal
1,5 kg Heu	1571,5	2052,2	5728
2,5 kg Schrot	2573,0	3475,3	9174,5
Summa der Einnahmen	4144,5	5527,5	14902,5
1,08 kg Trockenkot	1233,0	1557,5	4235,0
Verdaut	**2911,5**	**3970,0**	**10667,5**
CH_4 122,5 l	353,5	241,0	1166,7
Es bleiben	2558,0	3729,0	9500,8
Harn 4,716 kg	142,1	147,2	707,5
Es bleiben	2415,9	3581,8	8793,3
Respiration 2389 l CO_2, 2491 l O_2	3560,0	4694,0	—
Unterbilanz	1144,1	1112,2	—
Entspricht g Körperfett	396,2	396,3	—
Mittel	396,25		3764,5
Wärmeproduktion pro die	—	—	12557,8

Cal-Wert pro 1 g O_2 = 3,527 Cal.

Wir haben also in den beiden Versuchen einen nicht unerheblichen Verlust an Körpermaterial, dessen calorischer Wert sich nicht wesentlich ändern würde, wenn unsere Annahme, daß N-Gleichgewicht bestanden habe, im positiven oder negativen Sinne unrichtig wäre.

Wie in den bisher veröffentlichten Versuchen der aus der Sauerstoffbilanz berechnete Fettansatz etwas niedriger war, als der aus der Kohlensäure, so wurde auch in dem Heuversuch der Verlust auf dem ersteren Weg geringer gefunden, als über die Kohlensäure (die Abweichung überschreitet nicht die Grenze des zulässigen Fehlers). Im Schrotversuch stimmen beide Rechnungen in sehr erfreulicher Weise überein. Indem wir den Brennwert des im Mittel beider Rechnungsweisen gefundenen Verbrauches von Körperfett dem Brennwert des Nahrungsrestes zurechnen, finden wir die 24stündige Wärmeproduktion des Tieres. Sie beträgt im Heuversuch 13091 Cal, im Schrotversuch 12558 Cal. Der Mehrverbrauch in der rohfaserreichen Periode beträgt also nur 4,2 %.

So lassen sich also meine Daten ähnlich wie in den Landwirtschaftlichen Jahrbüchern, l. c. (Fußnote), zur Kontrolle der Genauigkeit der Berechnung des Energieumsatzes aus der gewöhnlichen Futtermittelanalyse benutzen. Auf Seite 205 hatte ich aus den R.-R.-Versuchen unter Benutzung der R.Q. der Lun-

genatmung und unter der Annahme, daß diese R.Q. das Resultat der Verbrennung eines Gemisches von Fett und Stärke sind, einen Energieverbrauch von 12597 Cal berechnet, während wir unter Berücksichtigung der Verdauungswerte, der CH_4-Bildung, und der Verluste im Harn den Wert 13091 finden. Der unter Benutzung der Futtermittelanalyse gefundene Wert weicht um 494 Cal = 3,9% von dem aus den R.-R.-Versuchen allein berechneten ab. Angesichts dieser geringen Abweichung erscheint es überflüssig, für die zuletzt gewonnenen Zahlen nochmals eine Berechnung auf die Oberfläche durchzuführen.

Die in neuerer Zeit von uns ausgearbeitete direkte Elementaranalyse der Futterstoffe und Stoffwechselprodukte in der Calorimeterbombe wurde in dieser Versuchsreihe noch nicht durchgeführt.

2. Berechnung des Energieumsatzes aus den respiratorischen Quotienten. Vergleich des von Dahm berechneten Energieverbrauchs und des in den R.-R.-Versuchen bei dem **gleichen** Futter gefundenen.

Herr Dahm hat den Gesamtverbrauch seines Tieres aus dem Sauerstoffverbrauch unter der Annahme berechnet, daß nur Fett und Kohlenhydrat an der Verbrennung teilgenommen hätten und zwar in dem nach dem respiratorischen Quotienten berechneten Verhältnis. Diese Rechnung trifft aber bei dem Wiederkäuer nicht streng zu, da ja bei ihm nicht nur die verdaute Rohfaser, sondern auch der größte Teil des übrigen Kohlenhydrates durch Gärung in Methan, Kohlensäure und organische Säuren umgewandelt wird. Über die Natur dieser Umwandlung gerade bei der hier vorliegenden Fütterung von im wesentlichen Heu und Getreidemehl geben uns die Gärungsversuche von Markoff Aufschluß. Nach der von Zuntz durchgeführten Rechnung in dieser Zeitschr. **57**, 61 können wir annehmen, daß aus 0,9745 mg-Mol Kohlenhydrat von der Formel der Stärke und Cellulose 0,9783 mg-Mol Buttersäure und 0,1151 mg-Mol Milchsäure werden. Der calorische Wert des Sauerstoffs und der respiratorischen Quotienten für die aus den Kohlenhydraten für die Ernährung übrig bleibenden Säuren berechnet sich hieraus wie folgt.

Gemäß Tabelle XIVa wurden aus 5 kg Heu und 1 kg

Schrot verdaut: 1069,4 g Rohfaser und 1853,0 g N-freie Stoffe, in Summa: 2922 g Kohlenhydrat der Formel $C_6H_{10}O_5$. Das entspricht 18,38 g-Mol, woraus 18,443 g-Mol Buttersäure und 2,169 g-Mol Milchsäure werden. Bei der vollständigen Oxydation dieser Produkte werden pro 1 g-Mol Buttersäure 160 g Sauerstoff verbraucht und 524,75 Cal gebildet. Es sind also im ganzen entstanden:

9677 Cal unter Verbrauch von 2951 g O_2. Die 2,169 g-Mol Milchsäure brauchen pro 1 g-Mol 96 g O, liefern 329,7 Cal, so daß aus Milchsäureverbrennung 715 Cal entstanden sind unter Verbrauch von 208,2 g O. Die gesamten organischen Säuren haben 10392 Cal geliefert unter Verbrauch von 3159 g O. Die Buttersäure liefert pro 1 g-Mol 4 Mol CO_2 und braucht 5 Mol O_2. Die Milchsäure braucht 3 Mol O_2 und liefert ebenso viel CO_2. Wir haben also auf die 18,443 g-Mol Buttersäure 73,772 g-Mol CO_2 und auf die 2,169 g-Mol Milchsäure 6,507, zusammen 80,279 g-Mol unter Verbrauch von 5 mal 18,443 = 92,215 g-Mol O_2 für Buttersäureverbrennung und 3 mal 2,169 = 6,507 g-Mol O_2 für Milchsäure, zusammen 98,722 g-Mol. Der respiratorische Quotient der im Körper veratmeten Gärungsprodukte der Kohlenhydrate ist also

$$80{,}279 : 98{,}722 = 0{,}813.$$

Da, wie wir oben berechneten, die Gärungssäuren im ganzen 3159 g O_2 verbrauchten und 10392 Cal lieferten, kommen hier beim respiratorischen Quotienten 0,813 auf 1 g O_2 3295 cal oder auf 1 l O_2 = 4792 cal. Bei totaler Verbrennung eines Gemisches von Fett und Stärke entspricht demselben respiratorischen Quotienten eine Wärmemenge von 4887 cal pro 1 l O_2. Es ist also der Brennwert des Sauerstoffs, wenn er zur Oxydation der Gärungsprodukte der Kohlenhydrate dient, bei gleichem respiratorischen Quotienten um etwa 2 % niedriger als bei Verbrennung von Fett und Stärke. Bei Oxydation des Eiweißes im Körper des Hungertieres haben wir bei fast demselben respiratorischen Quotienten (0,803) pro 1 l Sauerstoff 4466 cal.

In ähnlicher Weise wie man aus dem Sauerstoffverbrauch bei reiner Fettverbrennung einerseits, reiner Stärkeverbrennung andrerseits den calorischen Wert des Sauerstoffs für jedes Gemisch von Fett und Kohlenhydrat berechnet, können wir auch

aus den hier vorliegenden Zahlen den analogen Wert berechnen für das im Körper des Wiederkäuers zur Verbrennung gelangende Gemisch von Gärprodukten mit geringen Mengen ungespalten resorbierter Kohlenhydrate. Eine Komplikation durch Fett besteht in meinen Versuchen nicht, da die verdauten Fettmengen pro Tag in der Heuperiode nur 41,4 g, in der Schrotperiode nur 17,4 g betrugen; eine Menge, die für die fettartigen Ausscheidungen an der Körperoberfläche wohl annähernd verbraucht wird, so daß zur Oxydation kaum Fett bleibt.

Für die einzelnen respiratorischen Quotienten zwischen 0,813 und 1,00 können wir den calorischen Wert des Sauerstoffs nunmehr leicht berechnen. Er beträgt

bei dem Quotienten 0,813 . . . 4,792 Cal
" " " 1,00 . . . 5,058 "

Es bedingt also ein + von 0,187
im Quotienten . . . . . 0,266 Cal

Ein Zuwachs des Quotienten um 0,01 steigert den calorischen Wert um 14,24 kleine Cal. Für den von Dahm und mir beobachteten Quotienten 0,84 hätten wir also gegenüber der reinen Verbrennung der organischen Säuren für das + von 0,027 im respiratorischen Quotienten 38,4 cal. Es würde also bei unseren Versuchen 1 l Sauerstoff = 4,830 Cal erzeugen, nach der beim Omnivoren richtigen Rechnung würde sich aus demselben Quotienten pro 1 l 4,911 Cal berechnen. Mit dieser Zahl hatte Dahm bei seinem damals 243 kg wiegenden Tier den Verbrauch zu 8282 Cal berechnet. Wenn wir hiervon den Aufwand für Kauarbeit mit 314 Cal abziehen, bleiben für die übrigen Leistungen 7968 Cal. Mit dem Meehschen Faktor 10 berechnet, ergibt sich pro 1 qm 2046 Cal. Wenn wir in der gleichen Weise vorläufig mit den Fett-Stärkewerten das Mittel meiner beiden Regnault-Reiset-Versuche 2608 l O_2 einsetzen beim respiratorischen Quotienten 0,84, so finden wir einen Gesamtverbrauch von 12808 Cal, wovon wieder 314 für Kauarbeit abgehen, so daß für die übrigen Leistungen 12494 entfallen, also bei 5,94 qm Oberfläche 2103 pro 1 qm. Die gleiche Rechnung unter Benutzung der richtigeren calorischen Werte, wie sie sich unter Berücksichtigung der Gärung berechnen, ergibt 2608 × 4,83 = 12597 Cal, nach Abzug der Kauarbeit

12283 Cal. Pro 1 qm Oberfläche 2068 Cal. Die Korrektur ist also keine große, sie beträgt etwa $1\frac{1}{2}\%$ des ganzen Wertes.

Dieser Vergleich der Dahmschen Werte mit den Ergebnissen der Regnault-Reiset-Versuche ist deshalb ohne weiteres zulässig, weil die biologischen Leistungen des Tieres in beiden Fällen fast die gleichen waren. Wenn ich die über den Tag gleichmäßig verteilten 12 Versuche, aus denen Dahm seinen Wert gewonnen hat, zusammenfasse, so ergibt sich, daß das Tier in 246 Minuten 63 Minuten gelegen und 121 Minuten wiedergekaut hat. Auf 24 Stunden umgerechnet, heißt das 369 Minuten liegen und fast 700 Minuten wiederkauen. Das Tier hat also im Regnault-Reiset-Apparat etwas mehr, als wie im Durchschnitt der Dahmschen Beobachtungen, wiedergekaut und etwas weniger gelegen. Die beiden ohnedies geringfügigen Abweichungen dürften sich also nahezu kompensieren, so daß wir beim Vergleich der Dahmschen Versuche mit einem Verbrauch von 2046 Cal pro 24 Stunden und 1 qm und der meinigen mit 2078 Cal zu einer sehr befriedigenden Übereinstimmung der auf so verschiedene Weise bei ungleichen Methoden gewonnenen Ergebnisse gelangen.

IV. Vergleich der älteren Zuntzschen Methode mit der Regnault-Reiset-Methode.

Die Respirationsversuche im März 1912.

Um Kanülenversuche direkt mit einem Regnault-Reiset-Versuch vergleichen zu können, wurden die nachfolgenden Versuche ausgeführt. Sie sollten Aufschluß geben, wieweit der nach der Zuntzschen Kanülenmethode gewonnene und in der üblichen Weise auf 24 Stunden berechnete Mittelwert mit dem beim gleichen Futter angestellten 24 stündigen Regnault-Reiset-Versuch übereinstimmt. Nach den vorhergehenden Auseinandersetzungen darf der Vergleich sich nur auf den Sauerstoff erstrecken. Die Kohlensäuremenge muß natürlich beim Kanülenversuch viel niedriger ausfallen, aber aus dem Unterschied können wir dann ein Bild gewinnen, wieviel Kohlensäure ausgerülpst, durch die Haut und mit den Darmgasen ausgeschieden wurde.

Das Futter setzte sich seit dem 10. II. aus 6,5 kg Heu, 2 kg

Stroh, 2 kg Schrot und 22 kg Rüben zusammen. Dieses Futter wurde bis zum 22. II. verabreicht, von da ab wurde die Heumenge auf 7 kg gebracht und die Rüben auf 25 kg. Das Stroh fiel weg. Die Respirationsversuche wurden in der Zeit vom 28. II. bis 7. III. durchgeführt (siehe Generaltabelle B der Kanülenversuche S. 196). Die Gewichtstabelle gibt für diese Zeiten folgende Werte an:

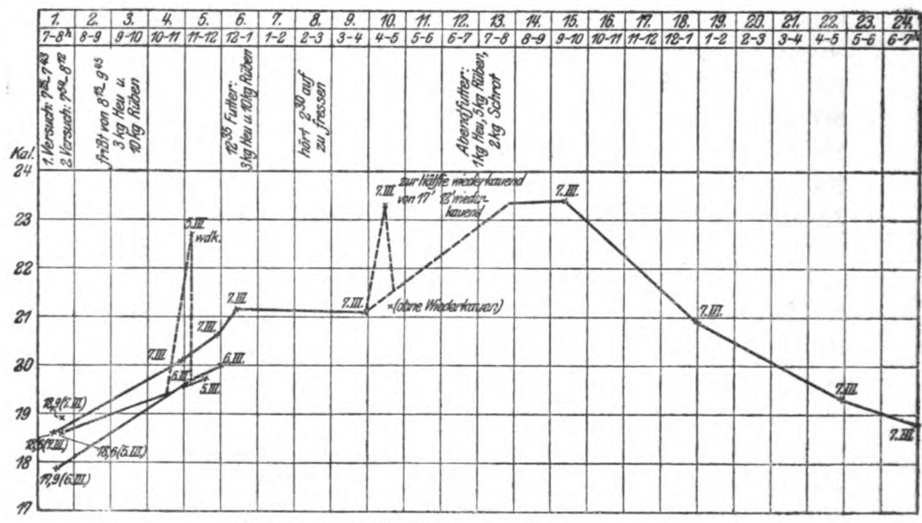
23. II.	642 kg	1. III.	630 kg
24. II.	635 „	2. III.	625 „
25. II.	630 „	3. III.	628,5 „
26. II.	631 „	4. III.	631 „
27. II.	632 „	5. III.	637 „
28. II.	630 „	6. III.	641 „
		7. III.	637 „
		8. III.	630 „

Das Gewicht ist also sehr konstant geblieben.

Die Versuchsanordnung war folgendermaßen:

An drei aufeinanderfolgenden Tagen, am 5., 6. und 7. III., stellte ich morgens die relativen Nüchternwerte fest, dann wurden dem Tier 3 kg Heu und 10 kg Rüben verabreicht. Es wurden darauf wieder Kanülenversuche ausgeführt. Während nun an den zwei ersten Tagen die Versuche von morgens 7^{00} bis mittags 12^{00} reichen, erstrecken sich die Versuche vom 7. III. über den ganzen Tag und die Nacht. Mittags um 1^{00} wurde das Mittagfutter, bestehend aus 3 kg Heu und 10 kg Rüben, um 7^{00} abends das Abendfutter, bestehend aus 1 kg Heu, 5 kg Rüben und 2 kg Schrot, verabreicht. Sämtliche Werte sind in die nachstehende Kurve eingezeichnet, wobei die Abszisse die Stunden, die Ordinate die aus Sauerstoffaufnahme und respiratorischem Quotient berechneten Calorien pro 1 kg und Minute ausdrückt. Die Werte der relativen Nüchternversuche 17,9 bis 18,5 Cal, stimmen mit denen im Jahre 1911 bei der Übergangsfütterung mit ähnlichem Futter aus 8 kg Heu, 1,65 kg Schrot und 2,5 kg Melasse (siehe Tabelle VIII und IX S. 188) (Mittel 18,1 Cal) sehr gut überein.

Bei der Betrachtung der Kurve möchte ich auf zwei Dinge aufmerksam machen: Nach dem Morgenfutter (ohne Schrot) stellt sich die Wärmeproduktion in langsamem Anstieg auf eine Höhe ein, die auch nach Verabreichung des Mittagfutters (ebenfalls ohne Schrot) ganz gleich bleibt. Erst nach Verabreichung



Kurve eines 24stündigen Kanülenversuches.

Fig. 2. Abszisse-Zeit: Ordinate-Calorien.

des Schrotes schnellt die Wärmeproduktion mächtig in die Höhe, um dann in bogenförmigem Abfall zum relativen Nüchternwert zurückzukehren, ganz so, wie es auch bei Dahm in seiner Kurve bei Schrotfütterung zum Ausdruck kommt.

Beim Vergleich des auf 24 Stunden berechneten Kanülenversuchs vom 7. III. mit dem Regnault-Reiset-Versuch vom 28. auf den 29. II. muß ich (da die Kanülenversuche sich alle auf das stehende Tier beziehen) im Regnault-Reiset-Versuch die Steigerung der Wärmeproduktion, bedingt durch Kauen und Wiederkauen, und die Verringerung derselben durch das Liegen in Rechnung setzen, so daß also die Werte des Regnault-Reiset-Versuchs sich dann ebenfalls auf das stehende und nicht kauende Tier beziehen. Aus dem Versuchsprotokoll des Regnault-Reiset-Versuchs habe ich die notierten Zeiten für Kauen, Wiederkauen und Liegen zusammengestellt und finde 136 Kauminuten, 236 Wiederkauminuten und 407 Liegeminuten. Der Mehraufwand berechnet sich aus meinen früheren Versuchen für das Kauen auf 7,3 cal, für das Wiederkauen auf 3,6 cal pro Minute und 1 kg. Daraus berechnet sich der Mehraufwand im ganzen auf $(136 \cdot 7{,}3 + 236 \cdot 3{,}6)$ cal = 1842 cal pro 1 kg. Für das Liegen beträgt die Verminderung des Arbeitsaufwandes im

Mittel 4,07 cal. Bei 407 Minuten also 1656 cal pro 1 kg Tier. Wir haben folglich im Regnault-Reiset-Versuch einen Mehrverbrauch von 1842 minus 1656 = 186 cal pro kg oder 117 Cal für das 630 kg wiegende Tier; das entspricht einem Verbrauch von 34,2 g Sauerstoff. Es lassen sich also die gewonnenen Werte des Regnault-Reiset-Versuchs mit dieser kleinen Korrektur auf das stehende Tier beziehen. Bei der Wichtigkeit dieses Vergleichsversuchs und um ein Beispiel zu geben für die Berechnung derartiger Versuche lasse ich hier das Originalprotokoll folgen.

Kasten-Respirationsversuch am Ochsen „Anton“
am 28./29. II. 1912.

Futterration: 7 kg Heu, 2,0 kg Schrot, 25 kg Rüben.

	Gasanalysen über Wasser aus dem Luftstrom hinter dem Absorptionsturm			Gasanalysen über Quecksilber aus dem Luftstrom vor dem Absorptionsturm				Bombensauerstoffzusammensetzung		
	CO_2	O_2	$N_2 + CH_4$	CO_2	CH_4	H	Contraction	CO_2	O_2	N_2
Zu Beginn	0,05	20,57	79,38	0,093	0,061	0,004	0,129			
	0,05	20,57	79,38	0,093	0,060	0,005	0,129			
Mittel	0,05	20,57	79,38							
Am Schluß	1,21	16,45	82,35	1,234	0,466	0,013	0,953			
	1,22	16,44	82,34	1,236	0,466	0,018	0,950			
	1,20	16,46	82,34							
Mittel	1,21	16,45	82,34							

Temperatur- und Barometerablesungen.

	Zu Beginn					Am Schluß				
	vor Absorptionsturm: Erdgeschoß		hinter Absorptionsturm: Keller		Bar.	vor Absorptionsturm: Erdgeschoß		hinter Absorptionsturm: Keller		Bar.
	tr.	f.	tr.	f.		tr.	f.	tr.	f.	
	19,0	16,2	17,38	15,53	759,2	21,12	18,82	18,64	17,67	761,5
Psychrometr. Diff. .	2,8		1,85			2,3		0,97		
Korr. Temp., $^1/_{28}$ der Differenz., Erdg. u. Keller	18,94					21,03				
Korr. psych. Diff. .	2,77					2,25				
W.D.T.	12,2				12,2	14,7				14,7
Bar. — W.D.T. . .					747,0					746,8

Kasteninhalt . . . . 87,0 cbm
Einbauten . . . —
Tiervol. 0,637
Laugevol. . . . 0,080
zusammen . . 0,717
Luftinhalt zu Beginn . . . . 86,283 cbm

Temp. 18,94° . . . . log 09002
Bar. 747 mm . . . . „ 87332
Red.-Fakt. . . . . log 96334
Luftinhalt . . . . „ 93592
Red. Vol. . . . . log 89926 = 79,3 cbm

	CO_2 0,08 %	O_2 20,54 %	N_2 ohne CH_4 79,315 %	CH_4 0,06 %	H 0,004 %
log Vol. .	89926	89926	89926	89926	
log CO_2 %.	90309	31260	89935	77815	
log	80235	21186	79861	67741	
	= 63,4 l CO_2	16,288 cbm O_2	62,894 cbm N_2	47,6 l CH_4	3,16 l H

Menge und Zusammensetzung der eingelassenen Luft:

2536 l Luft eingelassen

log 40415
log Red.-Fakt. . . 96334

log red. Vol. . . .	36749	log red. Vol. . . .	36749
log 20,9 % O_2 . .	32015	log 79,1 % N_2 . .	89818
log O_2 l	68764	log N_2 l	26567
	= 487 l O_2		= 1843 l N_2

Menge und Zusammensetzung der ausgesaugten Luft:

am Schluß 271 l ausgesaugt

log 43297
log Red.-Fakt. 96011
log red. Vol. 39308;

daraus berechnen sich unter Zugrundelegung der Schlußanalyse:

3,22 l CO_2, 40,57 l O_2, 202,2 l N_2, 1,17 l CH_4.

1. O_2 mit Außenluft eingelassen = (487 — 40,57) l = 446,43 l.
2. N_2 „ „ „ = (1843 — 202) l = 1641 l.
3. Herausgesaugt 3,22 l CO_2.
4. „ 1,17 l CH_4.

Anfangsluft im Kasten . . 86,283 cbm
Futter . . . . 38 l
Tränkwasser . . . . . 5 l
zusammen . . 0,043 cbm
Luftinhalt am Schluß . . 86,240 cbm

Temp. 21,03° . . . . . = log 08691
Bar. 746,8 mm . . . . . = „ 87320
Red.-Fakt. . . . . log 96011
Luftinhalt . . . . „ 93571
Red. Vol. . . . . log 89582 = 78,67 cbm

	CO_2	O_2	N_2 ohne CH_4	H	CH_4
	1,23 %	16,43 %	81,756 %	0,016 %	0,466 %
log red. Vol.	89582	89582	89582	89582	89582
log CO_2 % .	08991	21564	91305	20412	66839
log	98573	11146	80887	09994	56421
	968 l CO_2	12,926 cbm O_2	64,40 cbm N	12,51 H	366,62 l CH_4

O_2-Verbrauch:

Sauerstoff im Kasten anfangs	16,288 cbm
" " " am Ende	12,926 "
Aus dem Kastenvorrat verbraucht	3,362
mit Außenluft eingelassen	446
durch Futter- und Menschenschleuse eingedrungen .	23
aus der Sauerstoffbombe	—
Gesamt . .	3831
gemäß N-Bilanz ausgetreten	24
O_2-Verbrauch in 1471 Min. . . . . =	3807 l

Sauerstoffverbrauch in 24 Std. = 3727 l

CH_4-Anreicherung im Kasten	319,0 l
CH_4 ausgeschleust $\left\{\begin{matrix}3,17\\1,17\end{matrix}\right\}$	4,3 l
CH_4 gebildet	323,3 l

Methanbildung in 24 Std. = 316,5 l

H mehr im Kasten am Schluß	9,34 l

Wasserstoffbildung in 24 Std. = 9,14 l

N-Bilanz:

Endmenge	64,400
Anfangsmenge	62,894
Anreicherung	1,506 cbm
mit Außenluft hineingeschickt	1,641 "
Verlust	135 l
durch die Schleusungen herausgeholt	40 l
an N_2 ausgetreten	95 l
damit . . . . O_2	24 l

CO_2-Berechnung:

aus Lauge	3145,4 l
Anreicherung im Kasten	904,6 l
ausgeschleust (3,2 + 1,1 l)	4,3 l
CO_2-Produktion	4054,3 l
vom eingeschleusten Menschen stammen 2 × 1,4 l .	2,8 l
also in 1471 Min. produziert	4051,5 l

Kohlensäureproduktion in 24 Std. = 3966 l

R.Q. = 1,064.

Futtereinschleusung 80 l, wovon Vol. des Futters abzuziehen.

I. Schleusung 1[30].

Heraus 80 l, red. 73,5 l mit 20,2 % O_2, 79,52 % N_2, 0,094 % CH_4
hinein 72 l, red. 66 l mit 20,9 % O_2, 79,1 % N_2,

Also:

	O_2	N_2	CH_4
Heraus	14,85 l O_2,	58,44 l N_2,	0,069 l CH_4
hinein	13,79 l O_2,	52,20 l N_2,	
Heraus	+ 1,06 l O_2,	+ 6,24 l N_2,	+ 0,069 l CH_4

4. Schleusung 8[44] morgens.

Heraus 80 l, red. 73 l mit 16,94 % O_2, 81,53 % N_2, 0,415 % CH_4
hinein 72 l, red. 68 l mit 20,90 % O_2, 79,10 % N_2

Also:

	O_2	N_2	CH_4
Heraus	12,37 l O_2,	59,52 l N_2,	0,30 l CH_4
hinein	14,20 l O_2,	53,79 l N_2,	
	− 1,83 l O_2,	+ 5,73 l N_2,	+ 0,30 l CH_4

1. Menschenschleusung, 760 l — 75 l Mensch = 685 l Inhalt.

Heraus 685 l, } red. 629 l { mit 20,49 % O_2, 79,44 % N_2, 0,069 % CH_4
hinein 685 l, } red. 629 l { mit 20,90 % O_2, 79,07 % N_2

Also:

	O_2	N_2	CH_4
Heraus	129,0 l O_2,	500,1 l N_2,	0,434 l CH_4
hinein	131,5 l O_2,	497,8 l N_2,	
	− 2,5 l O_2,	+ 2,3 l N_2,	+ 0,434 l CH_4

2. Menschenschleusung.

Heraus 690 l, red. 632 l mit 17,97 % O_2, 81,25 % N_2, 0,309 % CH_4

Also:

	O_2	N_2	CH_4
Heraus	113,5 l O_2,	513,5 l N_2,	1,94 l CH_4
hinein	132,1 l O_2,	499,5 l N_2,	
	− 18,6 l O_2,	+ 14,0 l N_2,	+ 1,94 l CH_4

2. und 3. Futterschleusung nach dem Zeitverhältnis geschätzt.

Zusammenstellung.

	O_2	N	CH_4	CO_2
1. Schleusung heraus	+ 1,06 l O_2,	+ 6,24 l N,	+ 0,07 l CH_4	
2. " "	+ 0,40 l O_2,	+ 6,10 l N,	+ 0,12 l CH_4	
3. " "	− 1,75 l O_2,	+ 5,75 l N,	+ 0,30 l CH_4,	+ 0,50 l CO_2
4. " "	− 1,83 l O_2,	+ 5,73 l N,	+ 0,30 l CH_4,	+ 0,58 l CO_2
Sa. heraus . .	− 2,12 l O_2,	+ 23,82 l N,	+ 0,79 l CH_4,	+ 1,10 l CO_2
bei 2 Menschenschleusungen heraus	− 21,10 l O_2,	+ 16,00 l N,	+ 2,38 l CH_4,	
gesamt . . .	− 23,20 l O_2,	+ 39,80 l N,	+ 3,17 l CH_4,	+ 1,10 l CO_2

In diesem Versuch wurde kein Sauerstoff zugeführt. Man sieht, daß trotz des hohen Verbrauchs der O_2-Gehalt des Gasgemisches am Schluß mit 16,43 % innerhalb der physiologischen Grenzen bleibt. In den meisten Versuchen haben wir aber an Stelle des Einströmens von Luft zur Ergänzung der Volumabnahme

Sauerstoff aus einer Bombe zugeführt. Von der Bombe wurde stets eine Probe zur Analyse genommen und die eingeströmte Menge durch Vergleich des Anfangs- und Endgewichtes bestimmt. Um die eingetretene Sauerstoffmenge in Litern zu kennen, mußte die analytisch gefundene Zusammensetzung des Bombengases zunächst in Gewichtsprozente umgerechnet werden und dann aus dem so ermittelten Gewicht des eingetretenen Sauerstoffs und Stickstoffs ihr Volumen berechnet werden.

Von den Kanülen-Respirationsversuchen nehme ich die Werte, so wie sie bei den Versuchen an dem ruhig stehenden Tier ausgefallen sind, ausgenommen den Wiederkauversuch 70, dessen Einbeziehung das Resultat gefälscht hätte, weil, wie ausgeführt, das Liegen allein die Arbeit des Kauens- und Wiederkauens mehr als ausgeglichen hat. Die Zusammenstellung der Resultate ergibt (siehe Generaltabelle B S. 196):

Sauerstoffverbrauch pro Min. ccm	Kohlensäureproduktion pro Min. ccm
2395	2095 (Mittel der 2 Nüchternversuche)
2541	2301
2593	2419
2693	2417
2670	2430
2971	2630
2656	2347
2455	2164
2622 im Mittel	2350 im Mittel

auf 24 Stunden und durchschnittlich 630 kg Körpergewicht berechnet:

3776 l O_2 3384 l CO_2

Der R.-R.-Versuch in 24 Stunden:

3727 l O_2 3966 l CO_2

und

315,4 l CH_4 9,24 l H.

Beide Methoden führen also in bezug auf den Sauerstoffverbrauch zu einem innerhalb der Fehlergrenzen (1,3 $^0/_0$) gleichen Resultat. Es muß vorerst noch — bis für die verschiedensten Futtermittel und Futterkombinationen die Verdauungskurven genau bestimmt sind — bei Anwendung der Kanülen-

Methode beim Wiederkäuer zur Berechnung des Tagesumsatzes die Feststellung der 24stündigen Verdauungskurve verlangt werden. Aus Versuchsreihen mit verschieden zusammengesetztem Futterregime, wenn in 24 Stunden nur 2 bis 3 Kanülenversuche angestellt werden, Schlüsse auf die Stoffwechselbilanz ziehen zu wollen, ist vorläufig nicht zulässig.

Bei der schönen Übereinstimmung der Sauerstoffwerte springt die große Differenz in der Kohlensäureausscheidung in die Augen. Das Plus an Kohlensäure in dem R.-R.-Versuch entstammt der Gärkohlensäure, die bei den Zersetzungsvorgängen im Pansen, Dick- und Blinddarm neben Methan- und Wasserstoff entstanden ist, von der aber auch noch ein Teil resorbiert und durch die Lungen ausgeschieden wird.

V. Trennung der Lungenatmung von der Gasausscheidung durch Darm und Haut.

Um die Menge der per rumen et per rectum bei den Wiederkäuern entweichenden Kohlensäure- und Methanmengen zu bestimmen, kombinierte ich die Zuntzsche mit der R.-R.-Methode in ähnlicher Weise wie Zuntz, Lehmann, Hagemann bei den Pferdeversuchen die erstere mit der Pettenkofer-Methode kombiniert hatten. Das Tier stand im geschlossenen Apparat, atmete aber mit Hilfe der Tamponkanüle durch die außerhalb des Kastens stehende Gasuhr. Die Inspirationsluft wurde ebenfalls von außen bezogen. Die Ergebnisse der Gasuhrversuche sind in Tabelle XVI S. 226 zusammengestellt. Es wurde nun am Beginn und am Ende eines Versuchs aus der Kastenluft eine Luftprobe genommen und deren Gehalt an CO_2 und CH_4 bestimmt. Der Zuwachs an Kohlensäure entspricht dann der entwichenen Gärkohlensäure, vermehrt durch die geringe Ausscheidung durch die Haut. Das Futter setzte sich aus 7 kg Heu und 2,34 kg Trockenschlempe zusammen. Das Körpergewicht betrug durchschnittlich 550 bis 554 kg.[1])

[1]) Vgl. Landw. Jahrb. **1913**, 774, Periode IV.

	Thermometer trocken	Thermometer feucht	Baromet.	CO_2	CH_4	Dauer
			27. VI. 1911.			
Beginn .	19,2	15,2	763,7	0,116	0,015	11^{5}—1^{10}
Ende . .	17,8	16,7		0,161	0,030	
	in 24^h 393,3 l CO_2 und 144 l CH_4.					
			4. VII. 1911. 550 kg.			
Beginn .	17,2	13,45	770,7	0,110	—	9^{58}—12^{5}
Ende . .	18,7	14,80		0,155	—	
	in 24^h 379 l CO_2.					
			13. VII. 1911. 550 kg.			
Beginn .	21,65	18,10	766,1	0,087	0,013	10^{25}—12^{24}
Ende . .	21,75	18,75		0,132	0,030	
				0,045	0,017	
	berechnet auf 24^h 411,4 l CO_2 und 157,3 l CH_4.					

	CO_2	CH_4
Im Mittel also	393,3	
394,5 l CO_2	379,0	144,0
150,6 l CH_4	411,4	157,3
	1183,7	301,3

gegen 250,0 l CH_4 im 24 stündigen Respirationsversuch.

Die Gesamt-Kohlensäureausscheidung betrug

3193,5 l bei 2972 l O_2
394,5 l Kohlensäure in Haut- und Darmatmung.
2799,0 l CO_2 durch die Lungen.

Aus dem Befunde von 250 l CH_4 im 24 stündigen R.-R.-Versuch[1]) gegenüber nur 150,6 l in der Haut- und Darmausscheidung dürfen wir nicht schließen, daß annähernd 100 l CH_4 nach erfolgter Resorption durch die Lungen ausgeschieden seien. Die in Kap. VI beschriebenen Pettenkofer-Versuche, speziell der vom 18. X. 1910, Tab. XXI, und neuere, noch nicht veröffentlichte Versuche haben in Harmonie mit den Studien über den Verlauf der Pansengärung außerhalb des Körpers gezeigt, daß die Methanausscheidung nicht gleichmäßig über den Tag verteilt ist. Sie steigt in den nächsten Stunden nach Aufnahme von Rauhfutter, mehr noch von leicht löslichen Kohlenhydraten stark an, um dann auf einen relativ niedrigen Wert zu sinken. Auch dürften sich zeitweise, besonders bei ruhigem Liegen, größere Mengen im Pansen ansammeln, die dann beim Wiederkauen entleert werden.

[1]) Siehe Landw. Jahrb. **1913**, 804.

Tabelle XVI.

Kanülenversuche im Juni und Juli 1911, wobei gleichzeitig Haut- und Darmatmung gemessen wurde.

Versuchs-Nr.	Datum	Versuchsdauer	Tagesfutter: 7 kg Heu, 2,84 kg getrocknete Kartoffelschlempe															Versuchsphase und Bemerkungen
			Atemvol. in Litern	Thermo-Baromet.	Atemzüge	Analysen des Atemgases			O_2 Dif.	CO_2-Aussch. ccm		O_2-Verbr. ccm		R.Q.	cal		Körpergew. in kg	
						CO_2	O_2	N		pro Tier u. Min.	pro kg u. Min.	pro Tier u. Min.	pro kg u. Min.		pro Tier u. Min.	pro kg u. Min.		
1	27.VI.	11^{20}—11^{58}	56,3	109,35	24	3,86	16,58	79,58	4,42	1972,0	3,558	2275,5	4,175	0,8666	11 219	20,250	554,0	3h nach Morgenfutter bestehend aus 3 kg Heu u. 700 g Trockenschlempe
2	4.VII.	10^{05}—10^{43}	54,8	107,12	18	3,89	16,48	79,63	4,54	1975,0	3,591	2322,2	4,222	0,8555	11 425	20,775	550,0	2h nach d. Morgenfutter wie vorstehend
3	11.	12^{25}—12^{42}	61,9	110,50	20	3,52	16,48	80,00	4,64	1955,0	3,535	2599,0	4,700	0,7640	12 580	22,750	553,0	Fängt an, 2,5 kg Heu u. 800 g Schlempe zu verzehren
4	11.	12^{51}— 1^{15}	71,5	111,00	nicht gezählt	4,20	15,79	80,01	5,33	2686,5	4,857	3433,0	6,208	0,7820	16 685	31,730	553,0	Fortsetzung des vorigen Versuchs während der Futteraufnahme
5	13.	11^{04}—11^{24}	64,7	110,80	26	3,29	16,86	79,85	4,25	1908,0	3,469	2481,7	4,511	0,7660	12 090	21,980	550,0	Fängt während des Versuchs an, wiederzukauen
6	13.	12^{06}—12^{20}	70,0	110,90	20	3,41	17,08	79,51	3,91	2140,0	3,825	2468,2	3,910	0,8670	12 167	22,120	550,0	Gegen Ende etliche Hustenstöße, sonst Atmung sehr gleichmäßig

In den Landw. Jahrbüchern **1913**, 816 veröffentlichten Versuchen bleiben nach Abzug des Brennwertes für Kot, Harn, Methan Protein- und Fettansatz vom Brennwert der Nahrung für Wärmebildung 13901 Cal übrig.

Also pro Minute $\frac{13901}{1440} = 9{,}650$ Cal.

Die beiden ersten in obiger Tabelle angegebenen Werte mit 11,3 Cal pro Tier und Minute beziehen sich auf das in Verdauung befindliche Tier.

Die Steigerung gegenüber 9650, dem Wert aus dem 24stündigen R.-R.-Versuch, wo alle Phasen gemischt auftreten, beträgt 17 %.

Die Steigerung, die durch die Verdauung hervorgerufen wird, verglichen mit dem Zustand der Nüchternheit, beträgt 23 bis 24 % (Kanülenversuche Kap. II).

Wir finden also auf den zwei verschiedenen Wegen Werte, die miteinander gut übereinstimmen.

Die höheren Werte von Versuch 5 und 6 sind durch zeitweises Wiederkauen, bzw. durch Husten bedingt.

Versuch 3 und 4 sind Freßversuche mit entsprechend hohem Verbrauch.

Ähnliches gilt natürlich für die Gärungskohlensäure, von der freilich entsprechend ihrem höheren Diffusionskoeffizienten viel größere Mengen ins Blut gelangen und durch die Lungen ausgeschieden werden. Der aus den Darmpforten in 24 Stunden entleerte Anteil dürfte in diesem Falle im Verhältnis $\frac{250,0}{150,6}$ höher sein als der in den drei Versuchen gefundene Wert. Dieser ist also von 394,5 auf 654,8 l pro 24 Stunden zu erhöhen und beträgt 20,5 % der ganzen ausgeschiedenen Kohlensäure. Durch die Lungen wären also nur 2538,7 l CO_2 ausgeschieden, das sind 1,763 l pro Minute, ein Wert, der ebenso wie die Wärmeproduktion niedriger ist als die Ergebnisse der Kanülenversuche Tabelle XVI, die aber auch sämtlich auf der Höhe der Verdauung und zum Teil während des Wiederkauens ausgeführt sind.

VI. Vergleich des von Tigerstedt modifizierten Pettenkofer-Prinzips mit dem Regnault-Reiset-Verfahren.

Versuche im April 1910 und September, Oktober, November 1910.

Der große Respirationsapparat ist auch zur Anstellung von Pettenkofer-Versuchen eingerichtet. Dazu dient eine neben dem Apparat stehende, als Schöpfrad wirkende Gasuhr mit einer maximalen Saugleistung von 72 cbm pro Stunde. Während die Absaugung durch ein in einer oberen Ecke angebrachtes Rohr vor sich geht, strömt durch ein in der entgegengesetzten Ecke angebrachtes Rohr Außenluft nach. Zur besseren Verteilung der eintretenden und austretenden Luft münden die Ventilationsröhren in je einen die ganze Schmalseite einnehmenden Holzkasten, in dem mit Schiebern versehene Öffnungen angebracht sind, die für ein gleichmäßiges Ein- und Absaugen der Luft im ganzen Querschnitt sorgen. Der Laugenturm, der nur für die R.-R.-Versuche dient, wird durch zwei Schieberventile abgeschlossen. Um die Luft während des Versuchs im Apparat gut durchmischen zu können, kann neben den beiden im Innern angebrachten Ventilatoren auch das Gebläse benutzt werden, da der Turm durch eine Umführungsleitung umgangen werden kann. Im Anfang dieser Umführungsleitung und im

Saugrohr, kurz vor Einmündung in die Gasuhr, dienen je ein trockenes und ein feuchtes Thermometer zur Bestimmung der Temperatur und der Wasserdampfspannung. Die Gasprobe wird aus dem Saugstrom genommen und über Quecksilber aufgefangen. Auch der CO_2-Gehalt der eingesaugten Luft wird bestimmt. Im Verlauf zahlreicher Luftanalysen hatte sich nämlich gezeigt, daß bei nebligem Wetter, bei wenig bewegter Luft und bedecktem Himmel — Tage, wie sie besonders im Spätherbst öfters vorkommen — der CO_2-Gehalt bis 0,10 % in der Berliner Luft, speziell im Norden, wo zahlreiche Fabriken, große Bahnhöfe und der wiederbegonnene Hausbrand große Mengen Kohlensäure mit den Verbrennungsgasen besonders am Tage an die Atmosphäre abgeben.

An hellen, klaren, windbewegten Tagen, zumal bei vorherrschenden Ost- und Westwinden, zeigt die Atmosphäre auch hier den normalen Gehalt von 0,04 %.

Die Größe der vom Tier ausgeschiedenen Kohlensäuremenge wurde folgendermaßen berechnet: Im Verlaufe von je 2 Stunden, manchmal auch in kürzeren oder längeren Zwischenräumen, wird eine Stichprobe entnommen, zu gleicher Zeit eine genaue Ablesung der durch die Gasuhr ventilierten Luftmenge vorgenommen. Aus dem Mittel des CO_2-Gehalts zweier Proben, der Ventilationsgröße, dem CO_2-Gehalt der eintretenden Luft und aus der Anreicherung oder Abnahme der Kastenluft an CO_2 kann die CO_2-Produktion berechnet werden. Auf diese Weise läßt sich die CO_2-Ausscheidung in den einzelnen Perioden und im 24 Stundenwert berechnen. Hierdurch gewinnt man einen Einblick in den Ablauf der Stoffwechselsteigerung durch die Futteraufnahme. Nun gibt diese Methode nur dann absolut genaue Werte, wenn die CO_2-Ausscheidung entweder vollständig gleichmäßig vor sich geht, wie bei einem ruhenden, nüchternen Menschen, oder ihre Kurve wenigstens keine unregelmäßigen Zacken zeigt, wie z. B. bei einem ruhenden, in der Verdauung begriffenen Menschen. Aus den Kanülenversuchen geht nun hervor, daß diese Voraussetzung für gewöhnlich beim Wiederkäuer — wo nur längere Zeit nach der Futteraufnahme eine gewisse Gleichmäßigkeit in der CO_2-Ausscheidung durch die Lungen einzutreten scheint — nicht zutrifft. Angenommen, ich habe eben eine Stichprobe entnommen, das Tier kaut von

Tabelle XVII.

Pettenkofer-Versuch am 7. IV. 1910.
Tagesfutter: 8 kg Heu, 1 kg Schrot, 1kg Leinkuchen.
Tiergewicht morgens: 427 kg.
Inhalt des Apparates nach Abzug für Turm und die abgesperrten Leitungen 84 cbm.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Zeit	Stand der Gasuhr	Kastenmanometer	Thermo-Barometer	Temp. im Kasten °C	Barometer	Nr.	Petterson-Analysen CO_2 %	CO_2-Produktion in den Versuchsmin.	pro 60 Minuten	Zeit	Bemerkungen
11^{05}	4671,78	−8	15,2	16,7	752,92	I	0,10				
11^{46}	4702,12	−9	16,8	17,1	—		—	**116,59**	**116,59**	11^{05}–12^{05}	
12^{05}	4714,65	−9	17,2	17,15	753,34	II	0,207		**105,35**	12^{05}–1^{05}	
12^{36}	4735,55	−9	17,8	17,3	—		—	**105,35**	**116,3**	1^{05}–2^{05}	
1^{05}	4756,5	−9	17,3	17,4	753,16	III	0,254 / 0,252		**150,65**	2^{05}–3^{05}	1–1^{40} Heufütterung ca. 3 kg.
2^{10}	4807,12	−9	19,3	17,4	753,23	IV	0,300 / 0,309	**120,6**	**159,1**	3^{05}–4^{05}	2^{47} Wasser, 2^{55} 1 kg Schrot und 2 kg Heu (frißt nicht) eingeschleust.
3^{11}	4849,1	−9	21,1	17,8	753,33	V	0,355 / 0,357	**150,65**	**159,1**	4^{05}–5^{05}	
3^{45}	4874,8	—	—	—	—		—		**171,2**	5^{05}–6^{05}	Tier frißt von 4 Uhr ab und hat bis 5^{05} Schrot und Heu ausgefressen.
4^{45}	4917,2	−9	21,6	18,0	—		—	**352,9**	**133,2**	6^{05}–7^{05}	
5^{25}	4945,4	−9	21,8	18,4	753,64	VI	0,423 / 0,416		**133,3**	7^{05}–8^{05}	5^{20} 1 kg Leinkuchen u. 3 kg Heu frißt einen Teil davon, den Rest abends nach 8 Uhr.
6^{17}	4983,92	−9	21,2	18,4	—		—	**184,3**	**157,9**	8^{05}–9^{05}	
6^{30}	4993,35	−9	22,4	18,6	753,74	VII	0,453 / 0,454		**157,9**	9^{05}–10^{05}	Bulle liegt und kaut wieder. 6^{30}–8^{00}.
6^{33}	4995,32	−9	22,4	18,6	—		—	**210,5**			
8^{05}	5050,12	−9	22,4	18,8	754,23	VIII	0,455 / 0,447		—		8^{00} steht auf und beginnt zu fressen (frißt von 8^{05}–8^{20}).
10^{05}	5177,00	−9	24,2	20	755,22	XI	0,475 / 0,480	**315,9**	—		

diesem Moment ab intensiv ca. 30 Minuten lang, ich nehme die zweite Probe nach 60 Minuten. Hat nun die Gasuhr 40 cbm bei einem Gesamtinhalt des Kastens von 80 cbm ventiliert, so ist die durch das Wiederkauen bedingte Steigerung der CO_2-Anhäufung im Kasten bereits zu einem Viertel, würde die Gasuhr 80 cbm ventilieren — die Möglichkeit besitzen wir auch —, so wäre sie bereits bis zur Hälfte abgeklungen. Das gleiche gilt auch für den Wechsel zwischen Liegen, Stehen, Kauen und absoluter Ruhe, wo die Unterschiede in den einzelnen Phasen noch stärker sind. Wir schlugen deshalb einen anderen Weg für die

Tabelle XVIII.

Pettenkofer-Versuch am 9. IV. 1910.
Tagesfutter: 8 kg Heu, 1 kg Schrot, 1 kg Leinkuchen.
Tiergewicht morgens: 428 kg.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Zeit	Stand der Gasuhr	Kasten-Manometer	Thermo-Barometer	Kasten-temp. °C	Barometer	Nr.	Petterson-Analysen % CO_2	Gesamt-CO_2 pro Stunde	Bemerkungen
7^{10}	5159,42	−5	15,0	17,5	753,44	I	0,070 / 0,074	**116,12** (für 7^{10}–9^{05})	
7^{38}	5183,35	—	—	—					
8^{00}	5198,53	−7	18,4	17,65					
8^{05}	5202,12	−7	—	—	753,27	II	0,181 / 0,181		
9^{05}	5245,68	−7	19,5	17,9	752,85	III	0,260 / 0,259		
10^{05}	5290,0	−9	22,5	18,3	753,6	IV	0,331 / 0,332	**110,7**	9^{12} bekommt der Bulle ca. 3 kg Heu.
11^{05}	5332,23	−9	22,8	18,5	753,13	V	0,362 / 0,360	**158,79**	12,5 kg Wasser.
12^{05}	5375,73	−9	23,4	18,55	753,13	VI	0,410 / 0,409	**140,51**	11^{05} 3 kg Heu, 1 kg Schrot.
1^{05}	5420,68	−9	24,0	18,8	753,08	VII	0,4475	**170,2**	
2^{00}	5459,9	−9	unmeßbar	19,0	752,77			**184,95**	
2^{05}	5463,52	−9	—	19,3		VIII	0,450	**159,5**	2^{00} der Bulle kaut wieder.
3^{05}	5501,28	−9	26,4	19,5	752,3	IX	0,457 / 0,462	**148,03**	
3^{25} bis 3^{35}	Motordefekt	—	—	—					
4^{24}	5557,98	−8	26,4	19,9				**150,6**	
5^{00}	5583,78	−9	25,4	18,7	751,93	X	0,450 / 0,447	**(301,13)**	
5^{25}	5601,85	−9	—	—				**150,5**	Der Bulle frißt wieder.
5^{26}	5602,60	−9	—	—				**170,6**	6^{15} 1 kg Leinsamen, 2 kg Heu.
7^{05}	5667,52	−9	26,6	19,2	750,8	XI	0,486 / 0,486	**(351,3)** **170,6**	Frißt am Schluß des Versuchs.

Probeentnahme ein. Unsere Gasuhr ventiliert in der Zeiteinheit wegen der Gleichmäßigkeit im Gange des Elektromotors gleich große Mengen. Um nun aus dem Saugstrom eine der Zeit proportionale Menge in einem Sammelgefäß aufzufangen, bedienten wir uns einer Pendeluhr, an deren sich gleichmäßig senkendem Gewicht die mit der Sammelröhre durch einen Druckschlauch verbundene Auslaufspitze angebracht ist. Zwischen dem Ab-

Tabelle XIX. Pettenkofer-Versuch am 14. IV. 1910.
Tagesfutter: 8 kg Heu, 2 kg Schrot. Tiergewicht morgens: 432 kg.

Zeit	Stand der Gasuhr	Manometer	Thermo-Barometer	Kasten-temp. °C	Barometer	Nr.	Petterson-Analyse % CO_2	Gesamt-CO_2 Liter	CO_2 pro Stunde	Kontinuierl. Probe	CO_2 der kontin. Probe %	Bemerkungen
7^{10}	688,05	− 8	20,2	17,2	746,35	I	0,052 / 0,052					
8^{37}	750,22	− 10	24,5	17,7	—		—	**223,35**	**111,67**		0,381 Kastenluft − 0,040 Außenluft = 0,341	
9^{10}	776,02	− 10	25,3	18,1	746,78	II	0,241 / 0,244					Von 9^{00} bis 10^{00} 3 kg Heufütterung und $^1/_2$ kg Schrot.
10^{10}	822,3	− 11	unmeßbar	18,4	746,60	III	0,342 / 0,351	**174,3**	**174,3**	Beginn 10^{10}		10^{10} Beginn der Luftentnahme mit der großen Sammelröhre.
12^{10}	915,45	− 11	11	19,1	746,26	IV	0,369 / 0,366	**291,9**	**145,95**			
1^{10}	946,65	− 11	11	19,3	—		—					
1^{57}	981,55	—	—	—	—		—					1^{17} 7,15 kg Wasser, 1 kg Schrot, 2 kg Heu.
1^{58}	982,27	—	—	—	—		—	**317,72**	**158,86**			
1^{59}	983,0	—	—	—	—		—					
2^{00}	983,74	—	—	—	745,97		—					
2^{07}	989,6	− 12	11	19,4	—	V	0,420 / 0,426			Gesamt-CO_2 1634,5 l in 11 Std.		2^{15} Bulle kaut wieder.
4^{00}	1071,37	− 12	11	19,8	745,55		—	**313,88**	**156,94**			
4^{01}	1072,13	—	—	—	—		—					
4^{02}	1072,86	—	—	—	—		—					
4^{03}	1073,6	—	—	—	—		—					
4^{04}	1074,32	—	—	—	—		—	**316,73**	**158,36**			
4^{05}	—	—	—	—	—	VI	0,440 / 0,437					
4^{55}	1115,72	− 12	11	19,9	—		—					5,8 kg Wasser, dann Heu und Schrotrest ($^1/_2$ kg). Diese Portion wird erst zwischen 6^{30} und dem Ende des Versuchs langsam ausgefressen.
5^{08}	1121,13	− 12	11	19,8	—		—					
6^{01}	1159,0	− 12	11	20,0	745,53		—					
6^{07}	1164,98	−12,5	11	20,0	—		—					
6^{13}	1169,2	−12,5	11	20,2	—	VII	0,447 / 0,444					
7^{25}	1223,15	− 12	11	20,3	—	VIII	0,480 / 0,506 (nicht geschüttelt)	**496,16**	**165,39**			Der Bulle frißt wieder.
8^{10}	1252,53	− 12	11	20,3	—							
9^{10}	1296,05	− 12	11	20,4	745,53	IX	0,465 / 0,465			Ende 9^{10}		Von 8 kg Heu ca. 2 kg nicht gefressen.

Mittel aus den Stichproben von 10^{10} bis 9^{10} . . 0,4186% − 0,04 = 0,3786% = **1710 l**

Tabelle XX. Pettenkofer-Versuch am 28. IV. 1910.

Tagesfutter: 8 kg Heu, 2 kg Schrot. Tiergewicht morgens: 445,4 kg.

Zeit	Stand der Gasuhr	Manometer	Kastentemp. °C	Thermo-Barometer	Barometer	Nr.	Petterson-Analyse % CO_2	Gesamt-CO_2 der Periode Liter	CO_2 pro Stunde	Kontinuierl. Probe insgesamt	CO_2 der kontin. Probe %	Bemerkungen
7^{20}	6334,55	− 4	14,4	—	760,98	I	0,103 / 0,099		**128,33**			
7^{50}	6352,07	− 4	15,0	—	—		—	**256,67** (7²⁰–9²⁰)				
8^{42}	6389,9	− 6	15,3	—	—		—					
9^{20}	6416,5	− 7	15,5	—	760,96	II	0,283 / 0,285		**128,33**			
10^{20}	6460,8	− 9	16,0	—	760,98	III	0,278 / 0,275	**110,38**	**110,38**	Beginn 10^{20}		Beginn der Fütterung mit 1 kg Heu 10^{00}.
11^{06}	6493,1	− 10	16,2	—	—		—		**131,91**			
12^{20}	6546,8	− 11	16,6	—	760,41	IV	0,359 / 0,358	**263,82** (11⁰⁶–12²⁰)	**131,91**			Bekommt 2 kg Heu und 4 kg Wasser 12^{00}.
1^{20}	6591,4	− 11	16,6	—	760,14	V	0,396 / 0,403	**170,20**	**170,20**			
2^{20}	6630,0	− 11	16,7	—	759,18	VI	0,379 / 0,379	**123,75**	**123,75**			
3^{20}	6676,1	− 11	16,7	—	760,24	VII	0,353 / 0,361	**121,86**	**121,86**	Gesamtmenge	0,377 % −0,040	Von 4^{00} ab kaut der Bulle wieder.
4^{20}	6717,55	− 11	16,7	—	758,83	VIII	0,358 / 0,356	**120,74**	**120,74**	**1743,73 l**	0,337 %	
4^{23}	6917,8	− 11	16,7	—	—	IX	—					
4^{24}	6720,55	− 11	16,7	—	—		—					
5^{20}	6763,4	− 11	16,8	—	758,44		0,408 / 0,408	**183,50**	**183,50**			Bekommt 5^{00} Heu, Schrot (1 kg).
6^{20}	6803,02	− 11	16,9	—	758,22	X	0,426 / 0,422	**171,10**	**171,10**			6^{00}. Der Bulle kaut wieder.
7^{20}	6844,55	− 11	17,2	—	758,12	XI	0,475 / 0,467	**208,5**	**208,5**			Bekommt 7^{30} Heu und 1 kg Schrot.
8^{20}	6888,55	− 11	17,2	—	758,07	XII	0,461 / 0,457	**204,5**	**204,5**			8^{40} kaut der Bulle wieder.
9^{20}	6930,55	− 11	17,3	—	757,82	XIII	0,475 / 0,474	**193,20**	**193,20**			9^{20} " " " "
10^{20}	6973,78	− 11	17,4	—	757,55	XIV	0,469 / 0,464	**175,12**	**175,12**	Ende 10^{20}		Zurückgewog. ca. 2 kg Heu (feucht).

Mittel von 10^{20} bis 10^{20} . . . . | 0,403 − 0,04 = 0,363 %

Mittel aus den Stichproben von 10^{20} bis 10^{20} . | **1824,6 l**

saugestutzen und dem Sammelrohr war ein Waschfläschchen angebracht, beinahe vollständig mit Quecksilber gefüllt, in das der capillar ausgezogene Stutzen gerade eintauchte, um den Rücktritt der einmal abgesaugten Luft zu verhindern. Man bekam so eine sehr genaue Durchschnittsprobe. Die gleiche Einrichtung war auch an dem Rohr für die eintretende Luft angebracht. Die Differenz des CO_2-Gehaltes der beiden Gasproben mit der Menge der Ventilationsluft multipliziert, ergab ohne weiteres die aus dem Kasten entfernte CO_2. Es war nur noch nötig, am Beginn und am Ende eines solchen Versuches, den man beliebig lang ausdehnen kann, — von 1 Stunde bis 24 Stunden — eine Momentprobe zu entnehmen, um über die Menge der dann im Apparat befindlichen CO_2 Aufschluß zu bekommen. Die ersten Versuche im April sind teilweise nach der zuerst beschriebenen Methode ausgeführt, zum Teil auch mit der neuen Modifikation kombiniert und vergleichbar gemacht. Die im Oktober und November sind auch teils Vergleichsversuche der letzteren Art, teils nur mit der kontinuierlichen Probeentnahme durchgeführt und verglichen mit bei gleichem Futter ausgeführten Regnault-Reiset-Versuchen.

Zu Tabelle XVII.

Im Versuch vom 7. IV. wurden in größeren Zeitintervallen Stichproben zur Bestimmung der Kohlensäure genommen, so wie es Tigerstedt bei seinen Untersuchungen am Menschen angegeben hat. Die Kohlensäurewerte pro Stunde (Kol. 10 und 11) zeigen uns in Übereinstimmung mit den Lungenatmungsversuchen, wie rasch und wie gewaltig wechselnde Lebensäußerungen und die Art des Futters diesen Wert beeinflussen. In der Zeit vor dem ersten Futter (relative Nüchternwerte) finden wir recht gleichmäßige Zahlen. Bald nach der Aufnahme von Heu steigt die Kohlensäureausscheidung auf eine sich stundenlang gleichhaltende Höhe, eine nochmalige Steigerung ruft die Aufnahme von 1 kg Schrot hervor (171 l CO_2). Der mächtige Abfall von 171 l auf 133 l in der darauffolgenden Stunde wird dadurch hervorgebracht, daß das Tier 2 Stunden lang liegt, und zeigt wieder recht deutlich, welche Ersparnis von Energie und Kraft gerade für den Wiederkäuer das Liegen bedeutet.

Tabelle

Pettenkofer-Versuch

Tagesfutter: 8 kg Heu, 1,5 kg

Tag	Probe	Zeit	CO_2 %	CH_4 %	Außenluft	Kastentemp. °C	Ventiliert cbm	Stand der Gasuhr	Barometer
Montag morgens	1.	11^{45}	0,315	0,0333	0,08	17,45	—	4305,00	764,24
	2.	2^{45}	0,458	—	—	18,45	130,27	4435,27	763,37
	4.	9^{10}	0,479	0,0383	—	19,2	146,68	4713,37	762,38
Dienstag morgens	5.	3^{08}	0,469	0,0323	—	19,0	254,81	4968,18	760,52
	6.	8^{45}	0,398	0,0273	—	18,5	244,34	5212,52	760,38
	7.	11^{45}	0,466	0,0413	0,08	19,2	130,59	5343,11	760,98
Pettenkofer-Versuch — Tagesfutter: Geringe Menge (1,47 kg) Heu,									
	1.	9^{10}	0,242	0,0103	0,04	16,6	—	5467,92	757,26
	2.	3^{10}	0,327	0,0173	—	18,20	255,67	5723,59	757,93
	3.	9^{10}	0,341	0,0153	—	18,65	256,64	5980,23	758,61
Kontinuierl.	12^h	9^{10} bis 9^{10}	0,329	0,0153	—	—	—	—	—
	4.	3^{10}	0,280	0,0143	—	17,7	254,0	6234,22	757,38
	5.	9^{07}	0,276	0,0043	0,05	18,1	250,92	6485,14	752,37
Kontinuierl.	12^h	9^{10} bis 9^{10}	0,294	0,0103	—	—	—	—	—

Zu Tabelle XVIII.

Das gleiche, was von Tabelle XVII gilt, läßt sich auch von Tabelle XVIII sagen. In Kol. 9 sind wieder die Stundenwerte angegeben und stimmen unter den gleichen Bedingungen wie am 7. IV. mit diesem Versuch sehr gut überein. Der höchste Wert wird auch hier nach Aufnahme des Schrotes gefunden. In diesem Versuch stand das Tier durchgehends.

Zu Tabelle XIX.

Im Versuch vom 14. IV. liegen zwischen den einzelnen Stichproben größere Zeitintervalle (3 bis 4 Stunden). Die Verabreichung des Tagesfutters ist eine gleichmäßigere als in den

XXI.
am 18. X. 1910.
Schrot, 1 kg Leinkuchen.

W.D.T.	Gasdruck	Thermometer an d. Gasuhr °C	Pro Stunde produzierte CO_2 Liter	CH_4 Liter	Stichproben CO_2	Kontinuierliche Probe CO_2	CH_4
13,88	750,36	16,3	**159,8**	**14,0**	11^{45} bis 2^{00} **479,5 l**	—	11^{45} bis 9^{10} 138,87 l
14,40	748,97	17,08	10^{40} bis 11^{20} Motor repar.			—	
15,2	747,18	17,88	**157,7**	**13,3**	2^{45} bis 9^{10} **1011,6 l**	—	
15,4	745,12	17,99	**156,1**	—	9^{10} bis 3^{02} **915,88 l**	—	9^{10} bis 3^{02} 79,28 l
15,1	745,28	17,8	**129,3** [1]	10,9	3^{02} bis 8^{45} **739,05 l** [1]	—	3^{02} bis 8^{45} 63,0 l
15,6	745,38	18,3	**158,3**	17,2	8^{45} bis 11^{45} **475,76 l**	—	8^{45} bis 11^{45} 51,8 l
					3621 l		333 l

am 28./29. X. 1910.
1,5 kg Schrot, 180 g Leinkuchen.

W.D.T.	Gasdruck	Thermometer an d. Gasuhr °C	Thermometer trocken	Thermometer feucht	Stichproben CO_2	Kontinuierliche Probe CO_2	CH_4
14,0	743,26	16,6	17,70°	15,92°	**641,7 l**	0,329 %	—
13,7	744,23	16,1	18,25°	16,15°	—	**1444 l**	0,0153 %
13,8	744,81	16,4	18,25°	16,15°	**708,2 l**	—	70,48 l
—	—	—	Etliche Minuten Reparatur		**1349,9 l**	—	
13,7	743,68	16,2	17,90°	15,80°	—	0,294 %	—
13,6	738,77	16,1	17,45°	15,72°	**562,7 l**	—	0,0106 %
—	Die Uhr geht bis 9^{34}		—	—	**519,0 l**	—	42,36 l
					1081,7 l	**1083,5 l**	
Gesamtmenge in 24 Std. . . .					**2431,6 l**	**2527,5 l**	112,84 l

vorhergehenden Versuchen. Das Tier bekommt frühmorgens Heu und Schrot, dasselbe Futter in gleicher Menge mittags und abends. Dementsprechend zeigen auch die pro Stunde berechneten Werte keine großen Schwankungen. In diesem Versuche wurde zum ersten Male die bereits beschriebene kontinuierliche Probe der austretenden Luft neben den Stichproben durchgeführt. Von der eintretenden Luft wurde in diesem Falle keine kontinuierliche Probe genommen, vielmehr auf Grund einer Stichprobe mit einem mittleren Wert von 0,04 % gerechnet. Um nun das wahrscheinliche Mittel aus den Stich-

[1]) Während dieser Periode liegt das Tier $3^h\,8'$. Vorher hat es bis 12^{30} überhaupt nicht gelegen; von da bis 3^{02} liegt es $1^h\,5'$.

Tabelle

Pettenkofer-Versuch
Tagesfutter: 5,0 **kg** Heu,
Körpergewicht: 540,0 **kg vor Eintritt**
„ 527,0 **kg nach dem**

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Datum	Stunde der Probeentnahme für Gasanalysen	Gasuhr		Mittl. Temp. aus je 12stündl. Ablesgn. der in die Gasuhr ein- u. austretenden Luft	Barometer	W.D.T. bei Gasuhrtemperatur	Gasdruck im Mittel	Kasten		Kastenlufttemperatur	
		Ablesungen	Ventilationsgröße cbm	°C				Temperatur °C	Gasdruck mm	trock. °C	feucht °C
7. XI.	8h abds.	7009,36	508,45	14,62	737,24	12,42	716,14	15,82	726,69	15,78	12,93
8. XI.	8h morg.	7517,81	—	—	743,30	—	0,81 mm sind abgezog. für den i. Kasten herrschend. Unterdruck von 11 mm = 731,60	—	732,43	15,4	13,05
—	—	—	—	14,68	—	12,46		—	—	—	—
8. XI.	8h abds.	8025,66	507,83	—	748,48	—		16,0	735,75	16,0	14,0

Versuch am
Tagesfutter: 5,0 **kg Heu,**
Körpergewicht: 531,5 **kg vor Eintritt**
„ 537,5 **kg nach dem**

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
13. XI.	7h abds.	8419,67	—	19,26	745,6	16,6	727,2	21,4	734,8	20,68	16,60
15. XI.	7h morg.	8917,47	497,8	—	742,09	—	—	20,9	727,94	20,5	17,6
15. XI.	7h abds.	9422,87	505,4	19,7	740,25	16,9	724,2	21,7	726,06	20,92	18,46

proben zum Vergleich mit dem Analysenwert aus der kontinuierlichen Probe zu gewinnen, wurden für die Zeit von 10^{10} morgens bis 9^{10} abends durch Interpolation für die einzelnen Stunden die Werte berechnet und aus der Summe das Mittel genommen:

10^{10}	0,3465
11^{10}	0,3570
12^{10}	0,3675
1^{10}	0,3960
2^{10}	0,4240
3^{10}	0,4313
4^{10}	0,4385
5^{10}	0,4420
6^{10}	0,4455
7^{10}	0,4520
8^{10}	0,4585
9^{10}	0,4650
12 Stunden	5,0238
Pro 1 Stunde	0,4186
„ 1 „	0,04 für Außenluft
Wahrscheinliches Mittel	0,3786

XXII.

am 7./8. XI. 1910.
1,0 kg Leinkuchen, 1,5 kg Schrot.
in den Respirationsapparat.
Versuch abends $8^1/_4$ Uhr.

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
CO_2-Produktion						CH_4-Ausscheidung						CO_2 pro kg und Minute
Ventil.	Außen-luft	Kasten-luft	Ven-tiliert	Menge im Kasten	ins-gesamt	Ventil.	Außen-luft	Kasten-luft	Ven-tiliert	im Kasten	ins-gesamt	
%	%	%	l	l	l	%	%	%	l	l	l	
0,367	0,08	0,3702	1305,0	− 5,13	1299,9	0,0358	0,012	0,039	108,23	29,917	105,0	
—	—	0,3607	—	—	—	—	—	0,035	—	26,60	—	
0,391	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
—	0,068	0,4688	1517	+ 84,61	1601,6	0,0263	0,011	0,034	122,0	26,13	121,50	
					2902,5						**226,5**	

14./15. XI. 1910.
1 kg Leinkuchen, 1,5 kg Schrot.
in den Respirationsapparat.
Versuch abends 7 Uhr.

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
	0,07	0,42	1405	− 28,5	1376,5	0,026	0,003	0,027	102,3	18,14	102,14	
0,386	0,07	0,385	—	—	—	—	—	0,027	—	17,98	—	
0,41	0,08	0,482	1482	+ 64,0	1546,0	0,031	0,003	0,034	125,8	25,39	133,21	
					2922,5						**235,35**	

Daraus berechnet sich für die 11 Stunden des Versuchs eine Kohlensäureproduktion aus dem Mittel der Stichproben zu 1710 l, aus der kontinuierlichen Probe zu 1634,5 l oder auf 12 Stunden berechnet:

aus den Stichproben . . . . . **1865** l
aus der kontinuierlichen Probe . **1782** l

Es war zu erwarten, daß die nach den beiden Methoden gefundenen Werte bei der Ungleichmäßigkeit der Kohlensäureausscheidung beim Rind nicht vollständig übereinstimmen werden.

Zu Tabelle XX.

Versuch am 28. IV. Bei diesem Versuche wurden die Momentproben wieder regelmäßig jede Stunde genommen. Die Tagesration wurde so verteilt, daß das Tier morgens im Ganzen 3 kg Heu erhielt, den Rest und das gesamte Schrot abends in der Zeit von 5 bis 7 Uhr. Während die am Morgen (1 kg) und Mittag (2 kg) verabreichte Heumenge keine wesentliche Steigerung der Kohlensäure hervorruft, schnellt dieser Wert

nach Einnahme der 2 kg Schrot wieder mächtig in die Höhe (bis auf 208 l Kohlensäure pro Stunde). Auch in diesem Versuch wurde neben den Momentproben eine kontinuierliche Analysenprobe gesammelt.

Der 12 Stundenwert aus dem Stichproben mit **1824** l und aus der kontinuierlichen Probe mit **1743,7** l zeigen den gleichen Unterschied, wie die Werte des vorausgehenden Versuches.

Die in Tabelle XXI und XXII aufgeführten Versuche unterscheiden sich von den eben besprochenen durch verschiedene verbessernde Erweiterungen. Es sind durchweg 24 Stundenversuche, ferner wurde nicht nur die Kastentemperatur abgelesen, sondern auch die Temperatur der aus der Gasuhr ein- und austretenden Luft bestimmt, ferner der Gehalt der Kastenluft an Wasserdampf, indem unter Benutzung der Umführung die vom Strom der Kastenluft umspülten feuchten und trockenen Thermometer abgelesen wurden. Wenn auch durch diese vermehrten Ablesungen die Resultate wenig beeinflußt werden, so bedeuten sie doch eine wesentliche Verfeinerung der Methode und bedingen eine größere Sicherheit der Resultate. Der wesentlichste Fortschritt gegenüber den früheren Versuchen liegt aber darin, daß wir in diesen Versuchen zum ersten Male auch die Mengen der ausgeschiedenen brennbaren Gase gasvolumetrisch bestimmten.

Der erste Versuch am 18. Oktober wurde beim gleichen Futter wie die Versuche im April durchgeführt und die gefundenen stündlichen Kohlensäurewerte decken sich mit den damaligen.

Besonders beachtenswert ist die Kurve der Methanausscheidung. Die Tagesration wurde wieder so verteilt, daß das Tier morgens um 9 Uhr 3 kg Heu erhielt, zu Mittag 3 kg Heu und 1,5 kg Schrot und abends 2 kg Heu und 1 kg Leinkuchen. Während die Methanausscheidung in der Zeit von 11^{45} morgens bis 9^{10} abends sich auf beinahe gleicher Höhe hält, sinkt sie in den Nachtstunden deutlich ab, um dann unmittelbar nach Rauhfuttergabe innerhalb der ersten 3 Stunden den höchsten Wert zu erreichen.

Das geht auch aus dem folgenden Versuch vom 28. X., einem Hungerversuch, hervor. Es wurden nur geringe Mengen

Heu (1,47 kg) vor dem Versuch verabreicht, während des Versuches bekam das Tier 1,5 kg Schrot und 180 g Leinkuchen. Am Morgen des folgenden Tages wurde kein Futter während der Versuchsdauer verabreicht. Die Beschränkung der Futterration, besonders das Fehlen des Rauhfutters bewirkt einen gewaltigen Abfall der CH_4-Produktion. Während wir bei Erhaltungs- und Mastfutter Mengen von 250 bis 350 l finden, werden in diesem Hungerversuch nur 112 l gebildet. In diesem Versuch wurden auch neben Momentproben zwei je 12stündliche kontinuierliche Analysenproben genommen. Die Tageswerte differieren auch in diesem Versuche.

Die Momentproben ergeben . . . **1350** l
Die kontinuierliche Probe . . . **1444** l

Der Unterschied ist aber in entgegengesetztem Sinne, wie in den vorigen Versuchen.

In der Nachtperiode, wo das Tier relativ nüchtern war und dementsprechend die CO_2-Produktion den niedrigsten Wert hatte, den wir bis jetzt fanden, wurde die CO_2-Ausscheidung weder durch Futteraufnahme, noch durch Verdauungsarbeit und Schwankungen der Gärung beeinflußt, sondern verlief gleichmäßig. Hier stimmen denn auch die Werte vollständig überein. Es betrug die Kohlensäureproduktion

nach den Momentproben . . . **1081,7** l
nach der Analyse der kontinuierlichen Probe . . . **1083,0** l

Auf Grund dieses Versuches möchte ich sagen, daß bei Anwendung des Pettenkofer-Tigerstedtschen Prinzipes und der gasanalytischen Methoden nur die kontinuierliche Probeentnahme der Analysenluft sichere Tageswerte garantiert, während die Momentproben, allein angewandt, eine gewisse Unsicherheit in die Tagesbilanz bringen, dafür aber — wenn jede Stunde der Gehalt an Kohlensäure bestimmt wird — wichtige Aufschlüsse über die Schwankungen der Stundenwerte unter dem Einfluß physiologischer Momente ergeben.

Das Richtige ist, beide Methoden zu kombinieren, so wie ich es in den letzten Versuchen ausgeführt habe.

Die Vergleichsversuche nach dem Regnault-Reiset-Prinzip.

I. Versuch am 2. und 3. IX. 1910.

Morgens 9^{20} kommt das Tier in den Kasten. Gewicht des Tieres 510 kg. Versuch beginnt vormittags 11^{20} und dauerte genau 24 Stunden und 3 Minuten. Tagesfutter 8 kg Heu, 1,5 kg Schrot, 1 kg Leinkuchen, also das gleiche Regime wie im Pettenkofer-Versuch vom April und vom 18. X.

Zu Beginn des Versuches herrschten folgende Temperaturverhältnisse.

Vor dem Absorptionsturm trocken 17,15°, feucht 14,1°
Hinter „ „ „ 12,0°, „ 10,6°

Barometer 762,82 mm; W.D.T. 10,4 mm, also Gasdruck 752,42 mm. Die Kastenluft zeigt zu Beginn folgende Zusammensetzung:

0,06 % CO_2
20,62 % O_2
79,32 % $N_2 + CH_4$
0,02 % CH_4

Von dem Gesamtinhalt des Apparates von 87 cbm sind für das Tier- und Laugevolumen 582 l in Abzug zu bringen, so daß das Luftvolumen 86,418 cbm, der mit Hilfe obiger Ablesungen reduzierte Wert 80,49 cbm beträgt. Daraus berechnet sich folgende Zusammensetzung der Kastenluft:

48 l CO_2 16,6 cbm O_2 63,955 cbm N_2
16 l CH_4

Am Ende des Versuches wurden folgende Temperaturablesungen gemacht:

Vor dem Absorptionsturm trocken 18°, feucht 16,72°
Hinter „ „ „ 6,69°, „ 6,04°

Das Barometer zeigte 763,42 mm, die W.D.T. 13,36 mm, also Gasdruck 750,06 mm.

Die Kastenluft zeigte am Ende folgende Zusammensetzung:

0,716 % CO_2
16,97 % O_2
82,314 % $N_2 + CH_4$
0,314 % CH_4

Der reduzierte Inhalt des Apparates ist am Schluß 80,04 cbm und setzt sich zusammen aus

573 l CO_2 13,583 cbm O_2 65,632 N_2
253 l CH_4

An Außenluft wurden 1615 l hineingeschickt (reduziert 1496,8 l), damit 312,8 l O_2 und 1184 l N_2.

Die Anreicherung an N_2 berechnet sich aus dem zu Anfang und Ende vorhandenen Kastenstickstoff auf 1677 l, so daß also 493 l N_2 eingedrungen sind und damit 131 l O_2. Der Sauerstoffverbrauch berechnet sich folgendermaßen:

Aus dem Kastenvorrat . .	3017 l	
Mit Außenluft eingelassen .	313 l	
Eingedrungen	131 l	
Summa .	3461 l	in 1443 Min.
In 1440 Minuten	3454 l[1]).	

Es hängt, wie in der Fußnote dargelegt, die Genauigkeit und Sicherheit der Werte weniger von der Dichtigkeit des Apparates, als von der Feinheit der Sauerstoffbestimmung ab. Wir haben nach dem Petterson-Prinzip einen O_2-Analysenapparat konstruiert, mit dessen Hilfe die 3. Dezimale mit Sicherheit zu bestimmen ist. Untersuchungen über den Wert einzelner O_2-Absorptionsmittel und die Beschreibung des neuen Apparates folgt demnächst.

Kohlensäurebilanz.

In der Lauge waren . .	3030,4 l	CO_2 absorbiert
Anreicherung im Kasten	525,5 l	
Gesamtproduktion . . .	3555,9 l	in 1443 Min.
	3548,0 l	in 1440 Min.

[1]) Dieser Wert ist infolge eines Versehens etwas zu klein ausgefallen. Es wurde erst 6 Stunden nach Beginn des Versuches bemerkt, daß der Quetschhahn einer fast capillaren Nebenleitung im Verbindungsrohr vom Gebläse zum Kasten offen geblieben war, so daß, da in dieser Leitung ein Überdruck herrscht, unbekannte Mengen, aber wohl einige 100 l Luft entweichen konnten. Unter der sicher zu hohen Annahme, daß 1000 l entwichen wären, mit einem durchschnittlichen Sauerstoffgehalt von 20,1 %, wären 201 l Sauerstoff verloren gegangen. Für die entwichene Luft hätten wir ebenfalls 1000 l aus dem Gasometer nachmessen müssen, mit einem durchschnittlichen Sauerstoffgehalt von 20,9 %. Damit wären 209 l Sauerstoff hineingelangt. Die Differenz zwischen dem entwichenen und dem eingetretenen Sauerstoff beträgt also nur 8 l, die vom Tier verbraucht worden sind. Für die Analyse würde dies einen Fehler von $^1/_{100}$ % bei der Sauerstoffbestimmung bedingen. Auf die Kohlensäureausscheidung hat dieses Versehen keinen Einfluß, da die entwichene Luft nach Passieren des Laugenturms praktisch kohlensäurefrei ist.

Vergleichen wir damit die CO_2-Produktion im Pettenkoferversuch mit 3621 l, so fällt die Differenz in die durch das wechselnde Verhalten des Tieres bedingte Fehlergrenze.

II. Respirationsversuch am 22. XI. 1910.

Futterregime: 5 kg Heu, 1,5 kg Schrot, 1 kg Leinkuchen.

Der Versuch beginnt nachmittags 2^{12} und dauert 23 Stunden und 50 Minuten.

Gewicht des Tieres 525 kg. Temperaturen zu Beginn des Versuches

vor dem Absorptionsturm trocken 20,9°, feucht 16,68°
hinter " " " 16,5°, " 14,8°

Das Barometer stand auf 752,46 mm, die W.D.T. betrug 11,54 mm. Der Gasdruck 740,92 mm.

Die Gasanalysen ergaben folgende Zusammensetzung der Kastenluft:

0,03 % CO_2
20,380 % O_2
79,596 % $N_2 + CH_4$
0,042 % CH_4.

Das auf 78,24 cbm reduzierte Gasvolumen des Apparates setzte sich demnach aus 23,5 l CO_2, 15,94 cbm O_2, 62,241 cbm N_2 und 32,8 l CH_4 zusammen.

Temperaturablesungen am Ende des Versuchs:

Vor dem Absorptionsturm trocken . . 15,50°, feucht 9,30°
Nach " " " . . + 0,65°, " — 0.15°
Barometer . . . . 757,39 mm W.D.T. 5 mm

Gasdruck 752,39 mm. Analysen der Kastenluft 0,17 % CO_2, 17,39 % O_2, 82,10 % N_2, 0,342 % CH_4.

Das 81,025 cbm betragende reduzierte Endvolumen setzt sich zusammen aus 137,7 l CO_2, 14,09 cbm O_2, 66,521 cbm N_2 und 277,1 l CH_4.

Mit dem Gasometer wurden an Außenluft 6022 l[1]) hineingemessen und damit 4395 l N_2 und 1161 l O_2. Herausgesaugt wurden 81 l, damit 13,2 l O_2 und 62,4 l N_2. Es wurden also

[1]) Es mußte deswegen so viel Außenluft hineingeschickt werden, weil in der zweiten Periode (Kälteperiode) von 22 auf 15° heruntergegangen wurde.

4333,1 N_2 und 1148 l O_2 hineingeschickt. Aus den vorhandenen N-Mengen zu Anfang und zu Ende ergibt sich eine Anreicherung von 4280 l N_2, so daß also 53 l N_2 und damit 13 l O_2 ausgetreten sind. Demnach stellt sich die Sauerstoffbilanz folgendermaßen:

1. Aus dem Kastenvorrat . . . . 1849 l
2. Mit Außenluft hineingeschickt . . . . 1135 l

Summa 2984 l

Beim Einschleusen von Menschen eingeführt . . . . 17 l
in 23 Stunden 50 Minuten verzehrt . . . 3001 l
in 24 Stunden . . . . 3021 l

Die Kohlensäureproduktion betrug in 24 Stunden . . . . 3140 l
und zwar von 2 Uhr mittags bis 2 Uhr nachts in einer Wärmeperiode (22°) . . 1564 l
Von 2 Uhr nachts bis 2 Uhr mittags in einer Kälteperiode (14 bis 15°) . . . . 1578 l

Auch im getrennt berechneten Sauerstoffverbrauch der zwei Perioden zeigen sich keine großen Differenzen, so daß aus diesem Versuch hervorgeht, daß Temperaturschwankungen zwischen 14 und 22° auf den Verbrauch beim Wiederkäuer keinen merklichen Einfluß ausüben. Im übrigen zeigen die beiden Versuchshälften deswegen einen annähernd gleichen Sauerstoffverbrauch und Kohlensäureproduktion, weil sie Verdauungs- und relative Nüchternstunden gleichmäßig umfassen.

III. Regnault-Reiset-Versuch, 30. XI. 1913.

Der Versuch beginnt 12^{40} mittags und dauert 24 Stunden. Gewicht des Tieres 531 kg. Futter wie im vorausgegangenen Versuch. Folgende Temperaturverhältnisse herrschen zu Beginn:

Vor dem Laugenturm:
trocken 16,0°, feucht 10,5°
Hinter dem Laugenturm:
trocken 1,5° feucht 0,8°

Barometer 756,07 mm. Wasserdampftension 6,12 mm, also Gasdruck 749,95 mm.

Die Analyse der Kastenluft ergab:

0,255 % CO_2, 20,615 % O_2, 79,13 % $N_2 + CH_4$, 0,032 % CH_4, so daß sich die auf 80,64 cbm reduzierte Kastenluft aus

205 l CO_2, 16,624 cbm O_2, 63,784 cbm N_2, 25,8 l CH_4

zusammensetzt.

Am Ende des Versuchs wurden folgende Temperaturablesungen gemacht:

Vor dem Laugenturm:
trocken 22,1°, feucht 16,8°
Hinter dem Laugenturm:
trocken 13,68°, feucht 11,75°

Barometer 758,12 mm, Wasserdampftension 10,9 mm, Gasdruck 747,22 mm.

Die Analyse der Kastenluft ergab:
3,26 % CO_2, 18,01 % O_2, 78,73 % $N_2 + CH_4$, 0,315 % CH_4, demnach bestand das auf 78,585 cbm reduzierte Volumen aus: 2562 l CO_2, 14,153 cbm O_2, 61,622 cbm N_2 und 247,5 l CH_4.

Wie hieraus und aus der Analyse hervorgeht, fand im Absorptionsturm infolge eines Defektes der Laugenpumpe keine genügende Bindung der Kohlensäure statt. Es mußten deshalb große Mengen Gas, zumal wir auch noch 1106 l Sauerstoff aus einer Stahlbombe hineinpreßten, durch das Gasometer gemessen und ins Freie geschickt werden. Die Menge des herausgesaugten Gases betrug 3349 l, red. 3144 l damit bei einem aus End- und Anfangsanalyse gemittelten Wert

600 l O_2, 2470,8 l N_2, 67 l CO_2 und 6,5 l CH_4.

Aus der tatsächlich vorhandenen Menge N_2 am Schlusse ergibt sich der Anfangsmenge gegenüber ein Defizit von 2163 l N_2, so daß unter Berücksichtigung, daß 29 l N_2 aus der Sauerstoffbombe hinzukamen, auf unbekanntem Wege noch 278 l N_2 eingetreten sind und damit noch 73 l O_2.

Die Sauerstoffbilanz stellt sich demnach zusammen aus:

1. der Abnahme des Kastenvorrats	2471 l
2. Zufuhr der Sauerstoffbombe	1106 l
3. mit Außenluft eingedrungen	73 l
Summa	3650 l
Mit Kastenluft ins Freie geschickt	600 l
also bleiben	3050 l
Durch Schleusungen kamen hinein	18 l
tatsächlicher Verbrauch	3068 l

Die Kohlensäurebilanz setzt sich zusammen:

1. Es fanden sich am Schluß im Kasten 2562 l CO_2
   zu Beginn . . . . 205 l
   produziert . . . . 2357 l
2. In der Lauge waren absorbiert . . 340 l
   Summa 2697 l

Mit der Kastenluft und durch Schleusen wurden herausgesaugt . . . . . . 73 l + 18 l

so daß vom Tier tatsächlich produziert wurde . . . . 2788 l

3. Dazu kommen schätzungsweise im Tierkörper gebunden[1]) . . . . . . 75 l
   Summa 2863 l

Die Methanproduktion belief sich auf 228,2 l

Ich nehme nun zum Vergleich das Mittel aus den zwei Pettenkofer-Versuchen und den zwei letzten Regnault-Reiset-Versuchen; es ergeben sich dann:

	O_2 l	CO_2 l	CH_4 l
Pettenkofer-Versuche	—	2912	237
Regnault-Reiset-Versuche . .	3044	2999	230

Die Resultate der Kohlensäureproduktion und der Methanausscheidungen ergeben bei diesem Vergleich befriedigende Übereinstimmungen.

VII. Zur Methodik.

Gasanalytische Bestimmung geringer Mengen Methan und Wasserstoff (Differentialmethode).

Beim Beginn unserer Versuche betraute mich Geheimrat Zuntz mit der Aufgabe, in Verbindung mit dem Tigerstedt-Sondénschen Apparat, eine Methode zur Bestimmung geringer Mengen Methan und anderer brennbarer Gase, wie Wasserstoff, auszuarbeiten. Die brennbaren Gase sollten in einem mit der Meßpipette kommunizierenden Glasgefäß durch elektrisch zum Glühen gebrachten Platindraht verbrannt werden. Für uns

[1]) Das Tier atmete am Schluß des Versuchs in einer Atmosphäre, die 3,26 % CO_2 enthielt.

kam die Menge des von dem Rind ausgeschiedenen Methans und Wasserstoffs innerhalb eines geschlossenen Respirationssystems, wo sich die brennbaren Gase im Verlaufe von 24 Stunden anreicherten, in Betracht. Der Apparat ist in Landw. Versuchsstat. **79/80**, 811 abgebildet.

Die Wände eines ca. 100 ccm fassenden Glasgefäßes, das mit Quecksilber gefüllt wird, sind von zwei Platindrähten durchsetzt, die ca. 1 cm in das Innere der Pipette hineinreichen. Zwischen den beiden Polen ist eine Platinspirale aufgehängt. Diese Spirale wird durch einen elektrischen Strom, reguliert durch einen vorgeschalteten Widerstand, bei der Analyse in Rotglut versetzt.

Eine große Störung hat sich dadurch ergeben, daß das Quecksilber beim Herübertreiben der Luft aus der Meßpipette sich nur schwer vollständig von dem Platin loslöst. Für gewöhnlich bleibt eine feine Quecksilber- und Amalgamschicht auf dem Platin haften. Setzte ich nun eine Spur Chlorwasserstoffsäure dem über dem Quecksilber liegenden Wassertropfen zu (was ich dadurch erreichte, daß ich aus einer Chlorwasserstoffflasche Dämpfe in die Glühpipette hineinsaugte), so schälte sich das Quecksilber glatt von den Platindrähten ab, so daß die Spirale immer blank und rein blieb und auch an den Drähten keine Spur von Amalgam haftete. Ließ man diese Vorsichtsmaßregeln außer acht, so gelang es nicht, eine Konstanz des Luftvolumens nach einer Verbrennung zu erreichen.

Zur Illustration möchte ich folgendes anführen.

In der Glühpipette eines neuen Apparates wurde gewöhnliche Luft geglüht, ohne nach mehreren Verbrennungen eine Konstanz des in der Meßröhre abgelesenen Gases erreichen zu können, (die Abnahme betrug immer mehr wie 0,01 $^0/_0$) und es sollte der Apparat bereits wieder wegen Undichtigkeit dem Glasbläser zurückgegeben werden. Auf meine Erfahrung mit Zusatz von Chlorwasserstoff wurde nun eine Spur Chlorwasserstoff in die Glühpipette gebracht, und von diesem Moment ab war das Luftvolumen bei mehreren Verbrennungen vor und nach dem Glühen absolut konstant. Überdies scheint auch Chlorwasserstoffgas als ein Katalysator[1]) bei der Verbrennung zu

[1]) Vgl. W. Ostwald, Die wissenschaftlichen Grundlagen der analytischen Chemie. 5. Aufl. 1910, S. 78.

wirken. Doch muß man sich hüten, zuviel der Salzsäure in die Glühpipette zu bringen, weil dann das Quecksilber wieder an dem Draht hängen bleibt (anfängt zu schmieren). Es genügen 3 bis 4 Tropfen auf ca. 300 ccm destillierten Wassers, das in die Glühpipette eingeführt wird, oder aber ein sekundenlanges Einsaugen von Luft aus einer gewöhnlichen, mit 25 % Salzsäure gefüllten Laboratoriums-Chlorwasserstoffflasche. Zur vollständigen Verbrennung des in den 60 ccm Luft befindlichen brennbaren Gases (Gehalt bis zu 0,4 % in meinen Versuchen) genügen ca. 8 Minuten. Sollte sich bei der zweiten Verbrennung noch eine Contraction von 0,01 % oder mehr zeigen, so ist die Glühpipette nach meinen Erfahrungen nicht in Ordnung. Es verbrennt dann Quecksilber. Ein deutliches Zeichen für diese Verbrennung ist folgende Beobachtung: bei einer richtiggehenden Verbrennung fließt das an den Glaswänden der Pipette sich kondensierende Wasser rein und klar an denselben herunter. Verbrennt auch Quecksilber, so bemerkt man in der dünnen abfließenden Wasserschicht staubfeine graue Bestandteile. Man muß daher vor jeder Versuchsreihe die Probe machen, daß gewöhnliche Luft nach dem zweiten Glühen absolut keine Contraction mehr erleidet. Wie aus der Abbildung hervorgeht, befindet sich ca. 7 cm über der Glühspirale ein Glashahn. Es ist klar, daß durch die immerhin 4 bis 600° betragende Hitze der Spirale Spuren von dem Fett, mit dem dieser Hahn eventuell geschmiert ist, in die Flüssigkeit übergehen und in die zwischen dem Hahn und der Verbrennungspipette befindliche Capillare fließen und von hier auf das Quecksilber gelangen. Nach meinen ersten schlechten Erfahrungen habe ich diesen Glashahn überhaupt nicht mehr geschmiert, und bei etlicher Übung läßt sich auch mit einem ungeschmierten gutgeschliffenen Glashahn ausgezeichnet manipulieren. Nachdem nun die Verbrennungspipette auf diese Art und Weise vorbereitet ist (ich unterlasse, hier alle die Vorbereitungen anzuführen, die zu einem chemisch reinen Quecksilber führen, und die unerläßliche Vorbedingungen zu einer richtigen Analyse sind), gibt es noch drei Punkte, die das Resultat unstimmig machen können:

1. Barometerschwankungen,
2. Temperaturschwankungen,
3. die Differenz der Wasserdampfspannung bei der Messung

der geglühten und der darauf mit Kalilauge in Berührung gebrachten Luft.

1. Barometerschwankungen.

Die Hauptmasse des geglühten Gases ist unabhängig von den Barometerschwankungen, weil jede Änderung durch die zweite, dem Volumen nach gleiche Pipette des Sondénschen Apparates, die als Thermobarometer dient, ausgeglichen wird. Nur das Gas in dem ca. 1 ccm haltenden Steigrohr von der Kalilaugepipette bis zur Meßpipette ist den Änderungen des Barometers unterworfen, und da eine Verbrennungsanalyse ca. 1 Stunde dauert und die Volumenmessung durch das Tropfenmanometer sehr empfindlich ist (0,001 $^0/_0$), so wird durch eine starke Barometerschwankung bei der Messung ein merklicher Fehler hervorgerufen. Es ist dann der im Steigrohr auf eine genau fixierte Linie eingestellte Laugenmeniskus verschoben.

2. Temperaturschwankungen.

Größer ist der Fehler, der durch Temperaturschwankungen hervorgerufen wird, weil sich mit diesen auch der Absorptionskoeffizient der Absorptionsflüssigkeit (ca. 20 $^0/_0$ige Kalilauge) für Luft ändert.

Um den Einfluß des je nach der Temperatur der Kalilauge sich ändernden Absorptionskoeffizienten auf das Resultat zu studieren, wurde folgender Versuch gemacht:

Der Wassermantel wurde um etwa 1,5^0 auf 14,2^0 gekühlt. Die Volumenablesung des CO_2-freien Gases ergab 100,44 ccm. Viermal wurde die Luft in die Lauge getrieben und jedesmal erfolgte eine gleiche Verminderung des Volumens um 0,005 $^0/_0$. Erst das fünfte Mal, nachdem inzwischen die Temperatur wieder auf 15,4^0 gestiegen war, blieb das übriggebliebene und wieder gemessene Gasvolumen gleich. Umgekehrt nimmt das Volumen, wenn die Kalilauge kurz vorher erwärmt worden ist, um die gleiche Größe zu. Dieser Fehler läßt sich dadurch ausschalten, daß man die Temperatur im Analysenzimmer möglichst konstant erhält, eventuell, wenn die Zimmertemperatur unter dem Mittel der letzten Zeit liegt, durch eine in der Nähe stehende Lampe schon 1 Stunde vor Beginn einer Analyse die Kühlwassertemperatur auf einen höheren Wärmegrad bringt. Ob ein durch die Gasabsorption in der Lauge bedingter Fehler vorhanden

ist, läßt sich leicht feststellen, indem man das Gas nach vollendeter Absorption der Kohlensäure nochmals in die Lauge treibt. Hierbei auftretende Änderung des Volumens läßt die Größe und Richtung des Fehlers erkennen.

3. Differenz der Wasserdampfspannung.

Nach Beseitigung des durch die Temperatur bedingten ausschaltbaren Fehlers bleibt nur noch die Differenz der Wasserdampfspannung in dem geglühten und dem in die Kalilauge übergetriebenen Gase. Es ist bemerkenswert, mit welcher Geschwindigkeit Temperaturausgleiche vor sich gehen. Treibt man das noch warme Gas aus der Glühpipette in die Meßpipette zurück und bestimmt sofort die durch die Verbrennung entstandene Contraction, so bleibt die gefundene Größe schon nach wenig Minuten gleich. Diese Volumengleichheit bleibt auch die nächsten 20 Minuten konstant. Treibt man darauf das mit Wasserdampf gesättigte Gas in die ca. 20%ige Kalilauge, bestimmt dann die absorbierte, aus den brennbaren Gasen entstandene Kohlensäure, so bekommt man einen Wert, der höher ist, als überhaupt nach der gefundenen Contraction theoretisch möglich ist. Erst ganz allmählich im Verlauf einer Zeit von 1 bis 2 Stunden sättigt sich das in der Kalilauge gewesene Gas wieder mit Wasserdampf[1]). Nachdem die hierdurch bedingte Zunahme des Volumens ihr Ende erreicht hat, findet man für die Kohlensäure einen Wert, der dem aus der gefundenen Contraction unter der Annahme der Verbrennung von CH_4 berechneten vollständig entspricht. Der Fehler, der durch die Wasserdampfabsorption hervorgerufen wird, beträgt ca. 0,007% bei 20%iger Lauge.

Ich habe nun diese Schwierigkeit auf folgende einfache Weise auszuschalten versucht und auch beseitigt. Zur Kontrolle, ob die brennbaren Gase beim ersten Mal auch wirklich vollständig verbrannt sind, mußte ich eine zweite Verbrennung vornehmen. Wenn sich nun bei der zweiten Verbrennung auch keine Contraction ergab (die zweite Verbrennung geschah unter

---

[1]) J. Geppert, Die Gasanalysen und ihre physiologische Anwendung, Berlin 1885, beobachtete ebenfalls, daß es Stunden dauert, bis sich das in einem Eudiometer über Quecksilber befindliche Gas bei Vorhandensein von Spuren von Wasser vollständig sättigt.

den gleichen Bedingungen wie die erste), so fand sich doch gewöhnlich nach der Überführung in die Kalilauge eine Verringerung des Volumens. Blieb nun der Barometerstand ziemlich gleich und war auch eine meßbare Temperaturänderung nicht eingetreten, so war die Größe des Fehlers, die durch Abnahme der Wasserdampfspannung bedingt wurde, in den Kontrollanalysen ebenfalls gleich. Sollte sich auch noch die Temperatur ändern, so würde die Volumabnahme einen der Temperatur entsprechenden höheren oder niederen Wert ergeben. So kann es kommen, daß der Fehler, der für die Differenz in der Wasserdampfspannung in Betracht kommt, konstant ist, aber vermehrt, verringert, oder ganz zum Verschwinden gebracht werden kann durch eine Steigerung oder Abfall der Temperatur. Da die Zeitdauer der ersten Verbrennung und Absorption der zweiten gleich ist, so sind auch diese Fehlergrößen sehr konstant. Nach meinen Beobachtungen beträgt der Fehler für die Differenz der Wasserdampfspannung 0,007 $^0/_0$. Änderung der Temperatur nach oben oder unten im Verlauf einer Analyse um 0,3° bedingt noch eine Steigerung oder Minderung des Fehlers um 0,005 $^0/_0$. Hat man vor Beginn einer Analyse nicht für konstante Temperatur gesorgt, so bedarf es mindestens dreier Analysen, bis die durch die Temperatur bedingte Differenz aus den Analysenwerten verschwindet.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine Verbesserung der Zuntzschen Methode der Gaswechselmessung angegeben, wodurch eine genauere Verfolgung des Einflusses der biologischen Vorgänge auf den Gaswechsel ermöglicht wird.

2. Es wird eine Modifikation des Tigerstedtschen Prinzips beschrieben, durch die genaue Durchschnittswerte längerer und kürzerer Zeitperioden gewonnen werden.

3. Es wird eine gasanalytische Methode zur genauen Bestimmung kleinster Mengen brennbarer Gase mitgeteilt.

4. Es wird gezeigt, daß unter Berücksichtigung der Besonderheiten jeder Methode die drei üblichen Prinzipien (das Zuntzsche, das Pettenkofersche und das R.-R.-Prinzip) beim Studium des Gaswechsels der Wiederkäuer einander in wünschens-

werter Weise ergänzen und, wo die Resultate vergleichbar sind, gute Übereinstimmung ergeben.

5. Es wird gezeigt, daß die Berechnung der Energiebilanz allein auf Grund der durch die Respirationsversuche gewonnenen Daten (O_2-Verbrauch und CO_2-Ausscheidung) mit der durch die chemische Analyse der Einnahmen und Ausgaben vervollständigten übereinstimmt.

6. Es wird bewiesen, sowohl durch die Kanülenversuche als auch 24 stündige Kastenversuche, daß die durch die mechanische Beschaffenheit des Futters bei einmägigen Tieren beobachtete, auf mechanische Verdauungsarbeit bezogene Steigerung des Verbrauchs beim Wiederkäuer nur gering ist und im wesentlichen durch den Akt des Kauens und Wiederkauens bedingt ist.

7. Bei unserem geschlechtsreifen Bullen war die Kastration ohne Einfluß auf den Energiestoffwechsel.

8. Es werden Versuche mitgeteilt zur Bestimmung der Haut- und Darmatmung. Es ergab sich, daß beim Rind mehr als 14 % der Gesamtkohlensäure auf die Darm- und Hautatmung entfallen.

9. Meine Resultate in bezug auf den Energieaufwand für Kauen und Wiederkauen stimmen mit denen Pächtners und Dahms gut überein.

10. Den Energieaufwand für Stehen finde ich bei meinem älteren Versuchstier höher, als ihn Dahm bei dem gleichen Tier in früher Jugend bestimmt hat. Meine Zahlen stimmen mit den von Armsby im Calorimeter gefundenen gut überein.

11. Der Vergleich meiner Versuche mit denen von Dahm ergibt, daß der Erhaltungsbedarf in den verschiedenen Lebensaltern des Rindes sich sehr annähernd der Körperoberfläche proportional verhält.

12. Zur genaueren Erforschung der so komplizierten Verdauungsvorgänge beim Wiederkäuer, zum eingehenden Studium der Wirkungen der Futtermittel, Futtergemische und der bei ihrer Konservierung entstehenden Gärprodukte auf die Milch- und Fleischproduktion und zur genauen Kenntnis der Wertigkeit unserer Bodenprodukte (z. B. der Kartoffel), sowie der von Landwirtschaft und Industrie gelieferten Abfälle (Schlempe, Melasse, Ölkuchen), besonders für unser wertvollstes Nutztier,

müssen die drei zur Erforschung des Energiestoffwechsels gebräuchlichen Methoden, da jede ihre speziellen Vorzüge besitzt, kombiniert werden. Besonderes Interesse verlangen die Bestimmungen der Verluste, die die Nahrungsstoffe infolge von Bildung von CO_2, CH_4 und H bei der Pansengärung erleiden.

Die Wichtigkeit solcher Untersuchungen für die deutsche Landwirtschaft, und damit für die Gesamtheit des Volkes und für seine Ernährung ist oft betont worden, hat aber leider — auch in den Kreisen, die dazu berufen wären — noch nicht den Grad der Beachtung gefunden, den sie verdiente.

Zur Durchführung derartiger Versuche hat sich, wie aus den mitgeteilten Versuchen hervorgeht, der Zuntzsche Universal-Respirationsapparat weitgehend bewährt.

Ergebnisse der unter Führung von Prof. Pannwitz ausgeführten Teneriffaexpedition 1910.

IV. Die Hautausscheidung in dem trockenen Höhenklima.

Von

A. Durig, C. Neuberg und N. Zuntz.

(Eingegangen am 29. September 1914.)

Eine der am meisten anerkannten Indikationen des trockenen warmen Klimas bildet die heilsame Wirkung desselben bei Erkrankungen der Niere. Speziell das Wüstenklima Ägyptens wird ja in dieser Hinsicht gerühmt. — Dieser Indikation liegt der Gedanke der Entlastung der Nieren durch verstärkte Tätigkeit der Hautdrüsen zugrunde. Ein Teil der unter anderen Umständen durch die Nieren auszuscheidenden Stoffe (Wasser, anorganische und organische Substanzen) wird bei verstärkter Tätigkeit der Schweißdrüsen durch diese den Körper verlassen. In warmem, feuchtem Klima geschieht dies auf eine sehr unangenehme und den Körper den Gefahren jäher Schwankungen der Hauttemperatur und der dadurch bedingten Erkältungskrankheiten aussetzende Weise. Nicht nur die Haut, sondern auch die Kleidung sind ständig durchnäßt. Anders in trockenem, heißem Klima, wie es für Ägypten und die amerikanische Wüste (Arizona) charakteristisch ist. Da kann eine sehr erhebliche Absonderung von Schweiß bestehen, und die Haut bleibt doch trocken, weil die Verdunstung mit der Sekretion gleichen Schritt hält. Dies wird noch mehr der Fall sein im warmen Höhenklima, wo die verdünnte Luft die Diffusion des Wasserdampfes und damit die Schnelligkeit der Verdunstung fördert.

Es erschien deshalb wünschenswert, bei unserer Teneriffaexpedition, die uns in trockene, starker Sonnenstrahlung ausgesetzte Höhen führen sollte, die Größe der Schweißdrüsen-

tätigkeit und die durch sie vermittelte Ausscheidung gelöster Stoffe genau zu verfolgen.

Als wir die Versuche planten und ausführten, hatten wir über die Wasserausscheidung durch die Haut noch dieselben Vorstellungen, die in dem Buche „Höhenklima und Bergwanderungen" S. 379ff. entwickelt sind. Im besonderen glaubten wir, daß ohne Tätigkeit der Schweißdrüsen nur wenig Wasser von der Haut abgegeben werde, weil der capillare Fettüberzug den Durchtritt nennenswerter Dampfmengen verhindere (l. c. S. 391). Diese Annahme erschien uns besonders gestützt durch Versuche, die Zuntz zusammen mit Tendlau an einem Menschen angestellt hatte (Zimmermacher), bei dem die Haut fast vollkommen ohne Schweißdrüsen war. Bei diesem Menschen stimmte die gesamte Perspiration fast absolut mit dem aus der Atemgröße und dem Wassergehalt der Inspirationsluft berechneten Verlust durch die Lungen überein. Es blieb also nichts für Wasserverlust durch die Haut übrig. Zu dem gleichen Resultat führten die Perspirationsbestimmungen auf dem Gipfel des Monte Rosa im Jahre 1891, wo eine Tätigkeit der Schweißdrüsen durch die niedrige Lufttemperatur und die fast ganz fehlende Muskeltätigkeit sicher ausgeschlossen war.

Inzwischen hat Loewy[1]) durch neue Versuche, zum Teil ausgeführt an demselben, der Schweißdrüsen entbehrenden Manne (Zimmermacher), festgestellt, daß in der Tat eine Wasserverdunstung durch die Haut unabhängig von der Drüsentätigkeit besteht und hat auch die Ursache des abweichenden Ergebnisses von Tendlau und Zuntz aufgeklärt. Bei den früheren Versuchen ist nämlich die Wasserverdunstung durch die Lunge erheblich zu hoch angesetzt worden, indem man annahm, die Exspirationsluft sei für Körpertemperatur mit Wasserdampf gesättigt. Galeotti[2]) hat gezeigt, daß dies nicht der Fall ist, daß vielmehr die Wasserdampfmenge der exspirierten Luft im Mittel 78% der der Körpertemperatur entsprechenden vollen Sättigung beträgt. Loewy und Gerhartz[3]) haben nun festgestellt, daß dies darauf beruht, daß die exspirierte Luft bei weitem nicht die Temperatur des Körperinnern besitzt. Bei

[1]) Loewy und Wechselmann, Virchows Archiv 206, 79, 1911.
[2]) Galeotti, diese Zeitschr. 46, 173.
[3]) Diese Zeitschr. 47, 343.

Inspiration durch den Mund und Exspiration durch die Nase ist die Temperatur der ausgeatmeten Luft niedriger als bei dem umgekehrten Mechanismus, sie beträgt bei Exspiration durch die Nase 31,05 bis 32,75°, bei Exspiration durch den Mund 32,0 bis 35,25° im Mittel 34,0°. Der niedrigste Wert wurde bei Einatmung kalter Luft von 0° gewonnen, die anderen Werte beziehen sich auf Zimmerluft von ca. 20°.

Da die Temperatur der Inspirationsluft die der ausgeatmeten beeinflußt, wird man nicht zweifeln können, daß letztere auch kälter sein muß, wenn die Einatmung auf demselben Wege wie die Ausatmung erfolgt, wobei ja der Luftweg durch Berührung mit der kühlen Luft und durch energische Wasserverdunstung seitens der Schleimhaut gekühlt wird. Bei starker Muskelarbeit, welche die Körpertemperatur auf 38,4° erhöht hatte, maß die exspirierte Luft 33,7 bis 34,5°; es bestand also eine Differenz von 4,7 bis 3,9°, d. h. eine etwa ebenso große wie in den Ruheversuchen.

Wenn man nun in den älteren Versuchen von Zuntz an dem drüsenlosen Mann und in den Monte-Rosa-Versuchen für die Wasserdampfausscheidung durch die Lungen den niedrigeren, Galeottis und Loewys Befunden entsprechenden, Wert einsetzt, kommt man zu dem Resultat, daß in diesen Fällen eine Wasserabgabe durch die nicht schwitzende Haut stattgefunden hat. Dies harmoniert mit Loewys und Wechselmanns Befund, wonach bei niedriger Temperatur der normale und der schweißdrüsenlose Mensch annähernd gleich viel Wasserdampf durch die Haut ausscheidet.

Das Minimum der an einem Bein gemessenen Wasserausscheidung war bei den zwei Drüsenlosen (K. u. Z.) berechnet auf 24 Stunden und die ganze Körperoberfläche:

bei K 242 g Wasser bei 24° Lufttemperatur im Metallstiefel, der das untersuchte Bein umschloß,

bei Z 123 g Wasser bei 22,5° Lufttemperatur im Metallstiefel.

Das Maximum

bei K 600 g Wasser bei 34,4° Lufttemperatur im Stiefel,

" Z 436 g " " 37,9° " " "

Der Stiefel wurde in diesen Versuchen von außen erwärmt.

Zum Vergleich mit den hier zu erörternden Versuchen

interessieren uns einige von Loewy an Zuntz ausgeführte Messungen. Sie ergaben pro 1 qm und 1 Stunde:

3,455 g bei 14,5⁰
6,581 g „ 24,2⁰
15,32 g „ 25,0⁰ (Schweiß an der Hand)
$>$ 29,51 g „ 28,0⁰ und leichter Arbeit.

Auf den ganzen Körper berechnet ($68^{2}/_{3} \times 12{,}4$) = 2,066 qm und 24 Stunden beträgt der

erste Wert 3,455 = 171,3 g
zweite „ 6,581 = 326,3 g
dritte „ 15,33 = 759,9 g
vierte „ 29,61 = 1468,0 g

Als Ursache der Steigerung der Hautverdampfung mit wachsender Temperatur kommt wohl in erster Linie in Betracht, daß bei niedriger Lufttemperatur die verdampfende Gewebsschicht unter der Epidermis kaum höher temperiert ist als die angrenzende Luft, während mit dem Wachsen der Lufttemperatur die Haut zugleich blutreicher wird und dadurch in stärkerem Maße über die Lufttemperatur erwärmt wird. In den vorher mitgeteilten Beobachtungen an Zuntz werden diese Verhältnisse durch folgende Rechnung illustriert:

Wir nehmen zunächst an, die verdampfende Wasserschicht unter der Epidermis habe nur dieselbe Temperatur wie die Luft, dann hätten wir bei

14,5⁰ eine Dampfspannung von 12,4 mm und pro 1 qm 3,455 g Wasserdampfabgabe,

dem entsprechen bei

24,2⁰ eine Dampfspannung von 22,7 mm und pro 1 qm 6,581 g Wasserdampfabgabe.

Wenn die Steigerung genau der Dampfspannung proportional gewesen wäre, hätte die Verdampfung sein müssen:

$$\frac{3{,}455 \times 22{,}7}{12{,}4} = 6{,}32 \text{ g}.$$

Hier hat sich also ein anderes Moment als die höhere Lufttemperatur nicht merklich geltend gemacht; anders bei der nächsten Beobachtung, wo die gleiche hohe Lufttemperatur länger eingewirkt und zur Erweiterung der Hautgefäße geführt hatte. Wenn auch jetzt die Verdunstung der Dampfspannung proportional war, läßt sich letztere (x) nach folgender Gleichung berechnen:

$$\frac{3{,}455 \cdot x}{12{,}4} = 15{,}33$$

$$x = \frac{15{,}33 \cdot 12{,}4}{3{,}455} = 55{,}02 \text{ mm.}$$

Dies entspricht einer Temperatur von 39,9°, d. h. einer Temperatur, welche die Haut auch bei maximaler Blutdurchströmung nicht erreichen kann. Hier muß also ein neues, die Verdampfung förderndes Moment, unzweifelhaft Schweißsekretion, eingesetzt haben. Dem entspricht die Notiz, daß die Palma manus sich feucht anzufühlen begann, daß also Sekretion der Schweißdrüsen begonnen hat. Bei der weiteren Steigerung der Verdampfung auf mehr als 29,61 g pro Stunde und Quadratmeter, die unter dem Einfluß leichter Muskeltätigkeit stand, spielt sicher schon die Schweißabsonderung die Hauptrolle.

Bei der Beurteilung der sekretorischen Tätigkeit der Schweißdrüsen ist die möglichst genaue Trennung des von ihnen abgesonderten Wassers und des durch die Epidermis verdampften erwünscht, denn nur so kann man eine Vorstellung von der chemischen Zusammensetzung des Schweißes gewinnen, speziell in unseren Versuchen von seinem prozentischen Gehalt an Stickstoff und Chlor.

Angesichts der von Loewy nachgewiesenen großen individuellen Schwankungen der Verdampfung durch die Epidermis ist hier eine Rechnung mit Mittelzahlen von geringem Werte. Wir wollen deshalb zunächst nur für Zuntz auf Grund der von Loewy an ihm ausgeführten Messungen die Wasserabgabe der Haut in direkte Verdampfung und Absonderung der Schweißdrüsen zu trennen suchen. Wir können dies mit Hilfe der oben gemachten Feststellung, daß die Verdampfung durch die Epidermis der Temperatur der oberen Hautschichten proportional erfolgt. Diese Temperatur muß beim bekleideten Menschen, solange die Lufttemperatur nicht sehr hoch ist, um einige Grade unter der Temperatur des Körperinnern bleiben. Es wird ja fortwährend Wärme durch Leitung und Strahlung an die Luft abgegeben, und außerdem bedingt die Wasserverdampfung eine gewisse Abkühlung. Wir entfernen uns wohl nicht allzuweit von der Wahrheit, wenn wir annehmen, daß die das Wasser verdampfende Schicht unter der Epidermis etwa dieselbe Temperatur habe, wie die exspirierte Luft nach Ger-

hartz und Loewy, d. h. ca. 34°. Für diese Schätzung können wir uns auch auf die thermoelektrischen Messungen der Hauttemperatur von A. J. Kunkel[1]) stützen. Er findet unter normalen Verhältnissen, solange weder das Gefühl von Kühle noch das von Hitze besteht, keinen Temperaturunterschied zwischen den nackten und den von Kleidern bedeckten Teilen der Haut. Die Wärme beträgt überall 34,2 bis 34,6°, nur Ohrläppchen (28,8°), Handrücken (32,5 bis 33,2°) und Gesäß (32°) sind merklich kühler. Anders ist es natürlich, wenn Kältegefühl auf der Haut besteht, wie dies bei den Versuchen von Loewy an Zuntz bei niedriger Temperatur der Metallbehälter der Fall war; dann kann die Temperatur der Hautoberfläche sich der Lufttemperatur nähern. So ergab in Kunkels Versuch, Tabelle IV S. 76, die Messung, die im Zimmer nach einem halbstündigen Spaziergang in Winterkälte und leichter Kleidung ausgeführt wurde, im Gesicht 27,7 bis 28,7°, am Handrücken 24,7°, an den bedeckten Teilen, Brust und Bauch, aber immer noch 32,1°. Einen gewissen Anhalt geben uns auch die in Bädern von verschiedener Temperatur von J. Lefèvre[2]) ausgeführten thermoelektrischen Messungen der Temperatur des Badewassers, der Hautoberfläche und einer 2,0 mm unter der Oberfläche gelegenen Schicht; letztere entspricht wohl der für die Verdampfung in Betracht kommenden Region, denn die Dicke der Epidermis beträgt nach Vierordts Daten und Tabellen (S. 69) zwischen 0,7 und 1,7 mm, wenn man von den besonders verdickten Stellen absieht. Lefèvre findet nun folgende Differenzen zwischen Hautoberfläche und 2 mm Tiefe:

Bei	7°	Badtemperatur	5,9°
„	14,5°	„	2,7°
„	22°	„	1,2°

So große Differenzen wie im sehr kalten Wasser kommen natürlich nie vor, wenn die Hautoberfläche mit einem so schlechten Wärmeleiter wie Luft in Berührung steht. Es sprechen also auch Lefèvres Messungen dafür, daß die ver-

---

[1]) A. J. Kunkel, Über die Temperatur der menschlichen Haut. Zeitschr. f. Biol. N. F. 7, 55, 1889.

[2]) J. Lefèvre, La conductibilité de la peau. Journ. de physiol. et path. 3, 1, 1901.

dampfende Schicht, solange sich keine starke Hauthyperämie ausbildet, nicht um 1° wärmer ist als die Oberfläche der Haut.

Bedeutungsvoll für die hier in Betracht kommenden Verhältnisse sind auch die Studien von Willebrand[1]) über die Wasserdampf- und Kohlensäureausscheidung durch die menschliche Haut bei verschiedener Temperatur. In Übereinstimmung mit seinen Vorgängern Schierbeck und Nuttall und ganz entsprechend auch den Befunden von Loewy, findet er, daß die Wasserdampfausscheidung mit der Temperatur in ziemlich regelmäßiger Weise ansteigt. Siehe unten.

Wir haben die Beziehung zwischen Lufttemperatur und verdampfendem Wasser dadurch noch etwas präziser zu klären gesucht, daß wir in beiden an verschiedenen Personen ausgeführten Versuchsreihen von Willebrand zunächst für die niedrigste Temperatur berechneten, wieviel Wasser für jeden Millimeter Dampfdruck von der ganzen Haut des Menschen in 24 Stunden verdampft. In Willebrands Tabelle I ist die niedrigste Temperatur 12°, entsprechend 10,52 mm Dampfdruck. Dabei werden in 24 Stunden 252 g Wasserdampf abgegeben, also pro Millimeter Dampfdruck 23,95 g. Indem wir mit dieser Zahl in die bei höheren Temperaturen abgegebenen Wasserdampfmengen dividieren, bekommen wir den Dampfdruck in Millimeter Quecksilber, dem die abgegebene Wasserdampfmenge entspricht. Für diesen Dampfdruck finden wir dann die entsprechenden Temperaturen in den Tabellen von Landolt-Börnstein, 4. Aufl., S. 359. Wir erhalten so folgende zusammengehörige Zahlen:

Vom Körper verdampfte Wassermenge in 24 Std.	Temperatur der Luft	Berechnete Hauttemperatur
252	12,00	12,00
366	16,00	17,80
396	17,20	19,05
441	18,15	20,80
460	19,35	21,50
482	21,00	22,20
485	22,80	24,30
545	24,40	24,30
583	26,00	25,40
644	28,00	27,10

[1]) Willebrand, Skand. Arch. f. Physiol. **13**, 337, 1902.

In Reihe II entspricht der niedrigsten Temperatur von 18,2° eine Dampfspannung von 15,68 mm und eine Verdampfung von 317,8 g Wasser. Hier kommen also auf 1 mm Dampfspannung 20,27 g Verdampfung. Die Reihe gibt in gleicher Weise berechnet folgende Werte:

Vom Körper verdampfte Wassermenge in 24 Std.	Temperatur der Luft	Berechnete Hauttemperatur
317	18,2	18,2
351	20,4	19,7
400	22,6	21,9
575	24,6	28,0
655	26,1	30,2
632	27,0	29,6
817	31,5	34,2

Man sieht, daß man durchaus keine unwahrscheinlichen Annahmen über die der jeweiligen Lufttemperatur entsprechende Hauttemperatur des nackt bis auf den Kopf in einem Metallzylinder stehenden Menschen machen muß, um die gefundene Wasserabgabe als proportional der Dampfspannung in der Haut anzusehen.

Die so gewonnene Vorstellung, daß beim Nackten innerhalb ziemlich weiter Grenzen der Einfluß der Lufttemperatur auf die Wärme der Haut durch die Schwankungen der Blutfülle nur wenig modifiziert wird, findet eine weitere Stütze in den Zahlen Willebrands und seiner Vorgänger über die Kohlensäureausscheidung durch die Haut.

Mit dem Moment, wo die Schweißdrüsentätigkeit einsetzt, bei Willebrands muskelruhenden Menschen bei ca. 33° Lufttemperatur, steigt natürlich die Wasserverdampfung enorm. Die Kohlensäureausscheidung durch die Haut macht die stetige Steigerung, der die Wasserverdampfung mit wachsender Temperatur unterliegt, nicht mit, vielmehr steigt sie plötzlich zugleich mit dem Ausbruch des Schweißes etwa aufs 4fache. Nun ist ja klar, daß die CO_2-Ausscheidung abhängig ist von der Menge dieses Gases, die das Blut den oberflächlichen Schichten der Haut zuführt, d. h. von der zirkulierenden Blutmenge. Im Gegensatz hierzu ist die Wasserverdunstung nur indirekt insofern von der Blutmenge abhängig, als eine reichlichere Blutzufuhr die Hauttemperatur erhöht. Eine solche Erhöhung

kommt aber nicht mehr merklich in Betracht, wenn die umgebende Luft bereits 33° warm ist. Wir werden durch diese Erwägung zu dem Schluß geführt, daß im Moment der einsetzenden Schweißdrüsentätigkeit die Zirkulation durch die oberflächlichen Schichten der Haut ungefähr aufs 4fache steigt, was sich durch entsprechende Steigerung der Kohlensäureausscheidung kundgibt, während vorher die allmähliche Erwärmung der Haut, wie sie mit wachsender Umgebungstemperatur stattfindet, auf deren Blutversorgung keinen nennenswerten Einfluß ausübt. Wie bei anderen, vom Nervensystem in ihrer Sekretion beherrschten Drüsen, ist auch bei den Schweißdrüsen der Impuls zur Sekretion mit einer mächtigen Erweiterung der zuführenden Arterien verbunden, und die Größenordnung dieser Erweiterung entspricht gleichfalls den Verhältnissen bei den nahe verwandten Speicheldrüsen. Wir wissen ja aus den Beobachtungen von Cl. Bernard, Heidenhain, Chauveau u. a., daß z. B. unter dem Einfluß der Reizung der Chorda tympani die Durchblutung der Submaxillardrüse aufs 4- bis 5fache wächst.

Die Feststellung, daß die stärkere Durchblutung der Haut erst mit dem Ausbruch des Schweißes stattfindet, dürfte für den Kliniker, der auf dem Wege der Hauthyperämie eine Herabsetzung des arteriellen Blutdrucks, ev. auch eine Minderung der Zufuhr des Blutes zu inneren Organen erstrebt, von Bedeutung sein. Die Erwärmung der Haut wird nur dann den gewollten Zweck erreichen, wenn sie bis zu einer deutlichen Schweißabsonderung gesteigert wird.

Um in unseren Versuchen eine beträchtlichere Schweißsekretion zu erzielen, haben wir einige Stunden energische Muskelarbeit zu Hilfe genommen. Diese wurde in Berlin behufs besserer Kontrolle der Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnisse auf der Tretbahn im Respirationsapparat, auf Teneriffa durch Bergsteigen ausgeführt.

Als Vergleichsbasis für die auf Teneriffa ausgeführten Versuche dient ein in Berlin von Neuberg und Zuntz parallel ausgeführter Versuch, bei dem die Arbeit auf der Tretbahn im großen Respirationsapparat des Tierphysiologischen Instituts geleistet wurde. Hierdurch war es auch möglich, die Wasserdampfsättigung der Atemluft besonders genau zu bestimmen. Der Versuch begann am 9. Februar 1910 damit, daß beide

Versuchspersonen ein sehr gründliches Reinigungsbad nahmen und nach demselben die, erst in fließendem, dann in destilliertem Wasser ausgewaschene Unterkleidung anlegten, in der die festen Bestandteile des Schweißes aufgesammelt werden sollten. Das Körpergewicht wurde nackt und mit Kleidern bestimmt. Von diesem Moment ab wurden alle Einnahmen und Ausgaben des Körpers genau gewogen. Eine neue Wägung fand am anderen Morgen um 10^{30} statt und dann begann die Arbeit, indem beide Experimentatoren nebeneinander auf der im Winkel von 12° 58′, entsprechend 22,44% Steigung, aufwärts geneigten Tretbahn marschierten. Die Arbeit wurde stets so lange fortgesetzt, bis einer der beteiligten, meist Zuntz, stärkere Atemnot hatte. Dann folgte eine kurze Ruhepause; während derselben wurde das trockene und feuchte Thermometer, die in nächster Nähe der Marschierenden aufgestellt waren, und ein Rubnersches Haarhygrometer abgelesen. Die Arbeitsperiode dauerte von 11^{39} bis 2^{36}, also 177 Minuten. In dieser Zeit wurde ein Weg von 2731 m bei 613 m Steigung zurückgelegt. Nach Beendigung der Arbeit folgte Körperwägung, sorgfältige Abwaschung des ganzen Körpers mit warmem destillierten Wasser und Einlegen der Unterkleider nebst den zum Abwischen des Schweißes benutzten Tüchern in einer kleinen Menge Wasser, das nach einigen Stunden erneuert wurde. Das Waschwasser des Körpers und der Kleider wurde nach schwachem Ansäuern mit Weinsäure auf ein Volumen von 2 l eingedampft und hierin die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl und Chlorbestimmung ausgeführt. Die Gesamttrockensubstanz des Schweißes konnte nicht bestimmt werden, weil sich Fasern von der Unterkleidung und Epidermisschuppen in dem Wasser befanden. Die Einzelheiten der Berechnung wollen wir an den Daten des an Zuntz ausgeführten Versuches geben.

Vorher sei bemerkt, daß wir den Wasserdampfverlust durch die Lungen zunächst in der von Zuntz-Schumburg, Physiologie des Marsches, S. 204, beschriebenen Weise unter der Annahme berechnet hatten, daß die Exspirationsluft für die herrschende Körpertemperatur mit Wasserdampf gesättigt sei. Jetzt ist die Rechnung nach den S. 254 gegebenen Gesichtspunkten unter Berücksichtigung der Arbeiten von

Galeotti sowie von Loewy und Gerhartz korrigiert worden[1]).

Die Wasserverdampfung mit der Atemluft während der Nacht ergab sich aus folgenden Daten. Im Schlafzimmer betrug die Zimmertemperatur abends 14,60°, morgens 13,5°. Das Haarhygrometer zeigte abends 49%, morgens 54% relative Feuchtigkeit. Da die Wasserdampfsättigung der Luft bei der mittleren Temperatur 14,05° 12,02 mm beträgt, haben wir 51% dieses Wertes = 6,13 mm Spannung, entsprechend 4,887 mg[2]) Wasserdampf im Liter zu rechnen. Für die Exspirationsluft rechnen wir nach den Zahlen, die Loewy und Gerhartz für In- und Exspiration durch die Nase gefunden haben, eine Temperatur von 32°, entsprechend 35,7 mm Dampfspannung oder 28,46 mg Wasserdampf im Liter. Nach den um dieselbe Zeit an Zuntz ausgeführten Respirationsversuchen atmete er in Bettruhe in der Minute 5 l, also in den 8 Stunden von abends 11^{33} bis vormittags 7^{33} = 2400 l. Die Wasserdampfabgabe mit dieser Atemluft beträgt also 2400 × (28,46 — 4,89) mg = 56,6 g[2]). Von morgens 7^{33} bis 10^{33} schwankte die Temperatur an den Aufenthaltsorten zwischen 15,4 und 19,4°, das Haarhygrometer zwischen 54 und 33%; der eingeatmete Wasserdampf entspricht also einer mittleren Temperatur von 17,4° mit 14,9 mm Dampfspannung, wovon 43% = 6,41 mm oder 5,11 mg Wasserdampf im Liter. Wir können in dieser Zeit die Atemgröße auf 9 l pro Minute, also für die 3 Stunden auf 1620 l veranschlagen, im Liter haben wir 28,46 — 5,11 mg = 23,35 mg, in 1620 l also 37,8 g. Etwas größer ist die Atmung in den nächsten 66 Minuten während der Vorbereitung zum eigentlichen Arbeitsversuch zu veranschlagen. Wir dürfen hier pro Minute 10 l, also 660 l mit einer Ausscheidung von 22,48 mg pro Liter = 14,8 g rechnen. Zur Berechnung der Atmung während der Arbeitszeit dient uns zweckmäßig der aus der Arbeitsgröße annähernd zu berechnende Sauerstoffverbrauch. Dieser setzt sich zusammen aus

dem Ruheverbrauch der 177 Arbeitsminuten à 233 ccm . .	41,2 l
dem Verbrauch für die Bewegung von 71 kg über einen Weg von 2731 m, der in früheren Versuchen an Zuntz zu 0,1405 ccm pro Kilogramm und Meter bestimmt wurde	27,2 l
dem Verbrauch für das Steigen mit 1,276 ccm per mkg, also für (613 × 71) mkg	55,5 l
Sa. . .	124 l

[1]) Inzwischen hat auch W. A. Osborne, Journ. of Physiol. 47, S. XII, auf einem anderen Wege, indem er nämlich die Hautverdunstung durch einen den ganzen Körper dicht umhüllenden Gummianzug aufhob, nachgewiesen, daß die Exspirationsluft nur für eine Temperatur von 33,9° mit Wasserdampf gesättigt ist.

[2]) Das Gewicht des Wasserdampfes ist hier in Übereinstimmung mit älteren Veröffentlichungen aus dem für 100° C geltenden so berechnet, als wäre der Wasserdampf auch bei niedrigen Temperaturen ein vollkommenes Gas. Der hierdurch begangene Fehler erreicht im extremsten Fall nicht 10 g.

Aus den an Zuntz vorgenommenen Versuchen bei Arbeit ergibt sich auf 1 l Sauerstoffverbrauch eine Ventilation von 17,8 l, so daß wir im ganzen für die 124 l Sauerstoff 2207 l Ventilation zu rechnen haben.

Die Wasserverdunstung seitens der Lunge während dieser Periode ergibt sich aus den Hygrometer- und Psychrometerablesungen im Respirationskasten während der Arbeit. Im Mittel aus 5 Hygrometerablesungen berechnet sich die Wasserdampfspannung zu 12,3 mm. Im Mittel aus 6 Psychrometerbeobachtungen zu 13,4 mm. Daß die letztere Beobachtung etwas höher ausgefallen ist, erklärt sich aus der nur geringen Luftbewegung im Respirationskasten. Unter der Annahme, daß die an sich genauere Psychrometerbeobachtung etwas nach oben fehlerhaft ist, rechnen wir zweckmäßig mit dem Mittel beider Bestimmungen, 12,8 mm Dampfspannung, und indem wir die Spannung der Exspirationsluft mit 35,7 mm wie früher ansetzen, haben wir eine Verdampfung entsprechend 22,9 mm oder 18,26 mg Wasserdampf pro Liter. Die 2207 l Ventilation entsprechen also einer Ausscheidung von 40,3 g Wasserdampf[1]).

---

[1]) Es ist von Interesse, die Abweichung der älteren, eine Sättigung bei 37° annehmenden Berechnung, von der noch Galeotti, Gerhartz und Loewy berichtigten, zu betrachten.

Die ältere Berechnung ergibt

für die Nacht	93,7 g	Wasserdampf	statt	56,6 g
„ „ 3 Morgenstunden	62,9 g	„	„	37,8 g
„ 66 Minuten Arbeitsvorbereitung	25,1 g	„	„	14,8 g
„ die Arbeitsstunden	69,0 g	„	„	40,3 g
im ganzen	250,7 g	Wasserdampf	statt	149,5 g

Die Hautperspiration berechnet sich also jetzt um 101,2 g höher. Von dieser Hautperspiration sind aber 203 g nicht durch Tätigkeit der Schweißdrüsen bedingt, was wir bei unseren früheren Versuchen nicht berücksichtigt hatten. Die alte Rechnung hätte also die eigentliche Sekretion der Schweißdrüsen um 203 — 101 = 102 g zu hoch ergeben, das sind 6,8% der im ganzen sezernierten 1527 g Schweiß.

Von geringerer Größe dürfte die auch jetzt noch bestehende Unsicherheit der Rechnung sein, die daraus resultiert, daß die Lungenventilation, der Wasserdampfgehalt der exspirierten Luft und der respiratorische Quotient nicht während des Versuchs andauernd gemessen, sondern nur auf Grund von Stichproben geschätzt wurden. Das Übergewicht der CO_2-Ausscheidung über die Sauerstoffaufnahme hatten wir aus dem am Tage vorher gemessenen respiratorischen Quotienten von 0,846 auf 36,6 g berechnet. Wenn wir annehmen, daß dieser Quotient bis zum Schluß der Arbeit auf 0,70 gesunken wäre, im Mittel also 0,77 betragen hätte, wäre der Gewichtsverlust nur 13,2 g, also um **23,4** g geringer gewesen. Wenn ferner während der Nacht statt 5 l deren 7 in der Minute geatmet wären, müßte die auf 56,6 berechnete Wasserdampfabgabe durch die Lunge auf 79,2 g, also um **22,6** g erhöht werden. Eine ähnliche extreme Fehlergrenze besteht für die Lungenventilation

Es ist nun weiter der Anteil der Gewichtsdifferenz zwischen aufgenommenem Sauerstoff und ausgeschiedener Kohlensäure am Gewichtsverlust des Körpers zu berechnen. Im Mittel zweier, am Tage vorher ausgeführter Respirationsversuche beträgt der R.-Q. bei Zuntz 0,846. Da 1 l Kohlensäure 1,9652 g wiegt, beträgt das Gewicht von 0,846 l 1,662 g. Hiervon ab das Gewicht von 1 l Sauerstoff = 1,429 g, gibt eine Gewichtsabnahme des Körpers von 0,233 g für jedes Liter verbrauchten Sauerstoff, also für die 157 l Sauerstoff, die während der Arbeit einschließlich der 66 Minuten Vorbereitungszeit verbraucht wurden, 36,6 g Gewichtsverlust. Die Wasserdampfabgabe durch die Lungen schätzen wir für die Vorbereitungszeit auf 7,6 g, für die 177 Minuten Arbeitszeit, wie schon gesagt, auf 40,3 g, im ganzen 47,9 g, also gesamter Gewichtsverlust durch die Lungen 47,9 g + 36,6 = 84,5 g; der totale Körpergewichtsverlust während dieser 211 Minuten war 973 g, wovon nach Abzug der 84,5 g 888,5 g auf die Haut entfallen.

Nach den von Loewy[1]) an Zuntz ausgeführten Versuchen über die Hautverdampfung ohne Tätigkeit der Schweißdrüsen können wir diese auf 46 g veranschlagen, so daß 842 g von den Drüsen geliefert wären.

Für die Ruheperiode von abends 11^{33} bis vormittags 7^{20} beträgt der Gewichtsverlust

durch Perspiration		658,0 g
davon ab für Mehrausscheidung in der Kohlensäure	28,0 g	
für mit der Atmung verdampftes Wasser	56,6 g	84,6 g
es bleibt also eine Hautausscheidung von .		573,4 g

oder 71,7 g pro Stunde.

Wenn wir auch hiervon die wahrscheinliche Verdampfung durch die Haut mit 106 g abziehen, kommen wir zu dem Ergebnis, daß auch in der Nacht eine nicht unerhebliche Tätigkeit der Schweißdrüsen, die im ganzen 467 g Wasser lieferten, bestanden hat. Das entspricht auch durchaus dem subjektiven Empfinden von Zuntz.

Für die Zeit von 7^{20} bis 11^{05} vormittags gleich $3^h\,45'$ kann die Perspiration wegen einer unsicheren Wägung nicht genau

---

in den Vormittagsstunden und bei der Arbeit. Rechnen wir alle Fehlermöglichkeiten mit gleichem Vorzeichen, so finden wir, daß der höchste mögliche Fehler in der Bestimmung des von der Haut abgegebenen Wassers 100 g, d. h. 6,5% des ganzen Wertes, nicht erreichen kann.

[1]) A. Loewy und A. Wechselmann, Untersuchungen an drei blutsverwandten Personen mit angeborenem Mangel der Schweißdrüsen. Berl. klin. Wochenschr. **30**, und Virchows Archiv **206**.

bestimmt werden. Da aber auch in dieser Zeit etwas Schweißabsonderung bestand, können wir den in der Nacht beobachteten Wert von 71,7 g Hautausscheidung in jeder Stunde annehmen.

Das ergäbe . . . . 269 g
hierzu für die Nachtstunden . . . . 573 g
" " " Arbeitsstunden . . . 888 g

gesamte Hautausscheidung in $15^h 3' = 1730$ g

Die Verdunstung durch die Epidermis berechneten wir oben
für die Nachtstunden zu . . . . . 106 g
" " Arbeitsstunden zu . . . . . 46 g
und können sie für die Zeit von 7^{20} bis 11^5 veranschlagen auf . . . . 51 g

im ganzen . . . . 203 g
es bleiben also für die Tätigkeit der Schweißdrüsen . . . . 1527 g

Die Untersuchung des Badewassers am Schlusse des Versuches und des Waschwassers der Kleidung ergab 0,455 g N und 1,125 g NaCl = 0,682 g Cl.

Der Parallelversuch von Neuberg wurde in ganz analoger Weise durchgeführt und brauchen deshalb die Einzelheiten der Rechnung nicht noch einmal wiederholt zu werden. Ein geringer Unterschied kommt dadurch zustande, daß Neuberg in der Ruhe eine etwas stärkere Lungenventilation und höhere Wasserverdunstung hatte, daß ferner bei ihm der R.-Q. etwas höher, nämlich 0,86, war. Die Sauerstoffaufnahme des ganzen, $15\,^1/_2$ Stunden umfassenden, Versuchs ist wie folgt zu schätzen.

Für die 8 Nachtstunden . . . . 120 l O_2
" " 4 Morgenstunden bis zum Beginn des Versuchs . . . . . . 120 l O_2
" " $3\,^1/_2$ Arbeitsstunden auf der Tretbahn . . . . 130 l O_2

im ganzen . . 370 l O_2

Dem entspricht ein Gewichtsverlust beim R.-Q. 0,86 von 97 g. Der Wasserverlust durch die Lungen berechnet sich zu 154 g, also der gesamte Gewichtsverlust durch die Lungen zu 251 g.

Der totale Gewichtsverlust des Körpers war während der

12 Ruhestunden 781,2 g, während der $3^1/_2$ Arbeitsstunden 602 g,

also die totale Perspiration	1383 g
nach Abzug der durch die Lungen abgegebenen	251 g
bleibt für Hautausscheidung	1132 g

Über die Wasserverdampfung bei nicht schwitzender Haut liegen für Neuberg keine Bestimmungen vor, wir können sie jedoch nach den Erfahrungen von Loewy bei den obwaltenden Temperaturen zu etwa 13 g pro Stunde veranschlagen, im ganzen also zu rund 200 g. Es kämen dann 932 g auf die Tätigkeit der Schweißdrüsen.

Die Untersuchung der Waschwässer ergab 0,352 g N und 0,798 g Cl. Es war also die Schweißabsonderung und die N-Ausscheidung durch die Haut eine geringere, die Cl-Ausscheidung eine höhere als bei Zuntz.

Von besonderem Interesse ist noch die Wirkung der absolut gleichen von beiden ausgeführten Steigarbeit auf die Tätigkeit der Schweißdrüsen. Die gesamte Wasserausscheidung durch die Haut während der Arbeitsstunden betrug

bei Zuntz	888 g,
„ Neuberg	518 g.

Die wahre Schweißabsonderung, die durch die freilich nur unsichere Abschätzung der Verdampfung durch die Haut zu berechnen ist, wäre dann bei Neuberg (32 Jahre alt) 478 g, bei Zuntz (63 Jahre alt) 842 g. Es hat also der jüngere und kräftigere Mensch bei gleicher Arbeit sehr viel weniger Wasser durch die Schweißdrüsen abgegeben als der ältere und bei der Arbeit mehr bis an die Grenze seiner Leistungsfähigkeit angestrengte. Von Interesse ist noch der Vergleich der N- und Cl-Ausscheidung durch die Haut mit der gleichzeitigen durch die Nieren. Es betrug während der Versuchszeit von $15^1/_2$ Stunden

die N-Ausscheidung im Harn bei Neuberg . .	12,00 g,
„ Cl-Ausscheidung „ „ . .	5,975 g,
die entsprechenden Zahlen bei Zuntz	6,045 g,
	2,457 g.

Es geht die Ausscheidung beider Stoffe durch die zwei Sekretionsorgane keineswegs parallel. Wir haben auf 1 g im Harn ausgeschiedenen Stickstoff

im Schweiß bei Neuberg . . . . . . 29,3 mg,
" Zuntz . . . . 75,3 mg;

auf 1 g Chlor im Harn

bei Neuberg . . . . . . 133,5 mg,
" Zuntz . . . . 277,8 mg.

Endlich können wir die Werte noch auf 1 l abgesonderten Schweiß berechnen und gewinnen so vergleichbare Zahlen, sowohl wenn wir sie auf die Einheit des gesamten durch die Haut ausgeschiedenen Wassers, wie auch wenn wir sie auf die nicht so sichere wahre Schweißabsonderung beziehen. Wir haben dann für Neuberg pro Liter Wasserabsonderung durch die Haut 352 : 1,132 = 311 mg N und pro Liter wirkliche Schweißabsonderung 352 : 0,932 = 378 mg N. Die entsprechenden Chlorzahlen lauten 705,0 resp. 856 mg. Bei Zuntz bezogen auf die Gesamtwasserausscheidung durch die Haut

455,5 : 1730 = 263 mg N,
682,0 : 1730 = 394 mg Cl.

Auf die wahre Schweißsekretion von etwa 1527 g haben wir pro Liter 298 mg N und 447 mg Cl.

Der höhere Gehalt des Schweißes an beiden untersuchten Bestandteilen bei Neuberg deutet darauf hin, daß der größere Reichtum des Blutes an den betreffenden Stoffen, wie er sich in der fast doppelt so großen Ausscheidung durch den Harn ausprägt, einen gewissen Einfluß auf die Zusammensetzung des Schweißes besitzt, der aber beim Stickstoff geringer ist als beim Chlor.

Diese Frage ist in der nachfolgenden Arbeit von Berry einem genauen Studium unterworfen worden, mit dem Ergebnis, daß die verschiedene Konzentration der Stoffe im Harn nur mit geringen Änderungen derselben im Schweiß einhergeht.

Wir wenden uns nun zu den auf Teneriffa ausgeführten Versuchen. Hier kommt zunächst ein Parallelversuch an Zuntz und Neuberg in Betracht, der genau in derselben Weise wie der Berliner Versuch durchgeführt wurde. Zur Zeit des Versuchs hatten wir bereits 6 Tage in der Hütte in den Cañadas, 2160 m hoch, gelebt. Dort war die Wärmewirkung auf den Menschen am Tage, namentlich im Bereich der direkten Sonnen-

strahlen, eine sehr starke, obwohl die mit dem Aspirationsthermometer gemessene Lufttemperatur selbst um 12^h mittags nur 10,3 bis 12,8° betrug. Nachts sank die Temperatur regelmäßig unter 0°. Die außerordentliche Trockenheit der Luft trat besonders um die Mittagszeit hervor; um 2^h wurde eine relative Feuchtigkeit zwischen 3 und 20% gemessen. Zwischen beiden Versuchspersonen bestand nur insofern ein Unterschied, als Zuntz die Nächte in einem ungeheizten Laboratorium zubrachte und zum Teil trotz reichlicher Decken unter der Kälte litt, während Neuberg in einem kleinen leidlich warmen Zimmer schlief.

Der Versuch wurde am 3. April abends damit eingeleitet, daß eine gründliche Körperwaschung mit reichlichem Wasser stattfand. Die zur Aufnahme des Schweißes bestimmten Unterkleider waren fertig ausgewaschen, in trockenem Zustande von Berlin mitgebracht worden. Der Versuch dauerte für Neuberg vom 3. April abends 8^{37}, bei einem Körpergewicht von 72,95 kg, bis zum 4. April abends 7 Uhr, bei einem Gewicht von 71,72 kg. Es hatte also in den 22 Stunden 33 Minuten das Körpergewicht um . . . . 1230 g
abgenommen. An Nahrung und Getränken
waren aufgenommen . . . . 1708 g

2938 g
Im Harn wurden entleert . . . . . . 1148 g
also Perspiration . . . . 1790 g.

Die entsprechenden Daten bei Zuntz lauteten:
Anfangsgewicht am 3. April abends 9^{15} . 67,62 kg
Endgewicht am 4. April 8 Uhr abends 66,62 kg
also in 22 Stunden 45 Minuten Gewichtsverlust . . . . 1000 g
Nahrung und Getränke . . . . 1962 g

2962 g
Harn in den Ruhestunden . 633 g
" " " Marschstunden 250 g
883 g
Kot . . . . 16 g 899 g
also Perspiration . . . . 2063 g.

Der Schlaf war bei beiden in der Nacht normal, bei Zuntz bestand trotz Zimmertemperatur zwischen —1,5 und +3°

(Thermograph) kein Kältegefühl. Am Abend 11 Uhr wurde im Bett der Puls: 65, Temperatur: 37,2° bestimmt. Am anderen Morgen Puls: 58 bis 59, Temperatur 36,4°. Der Vormittag bis 11 Uhr wurde von beiden mit Laboratoriumsarbeiten verbracht, wobei die Lufttemperatur nach den Bestimmungen des Meteorologen Dr. Wenger zwischen 7,7 und 11,7° schwankte, in dem von der Sonne beschienenen dünnwandigen Laboratorium aber viel höhere Temperatur herrschte. Zeitweise war der Körper der starken direkten Sonnenstrahlung ausgesetzt. Um 11^{40} begannen beide gemeinschaftlich die Besteigung des Guajaragipfels, ca. 2700 m. Während der Besteigung wurden folgende Beobachtungen gemacht:

	Zuntz	Neuberg
12^{26} Beginn der steilen Steigung. Puls	100	102
1^{20} am Paßtor	92	96
Geruht nach Frühstück an dieser Stelle 1^{49}	96	104
2^{30} nach $^1/_2$ Stunde Steigen . .	128	128
Nach 5 Minuten Sitzen, schwankend	108—128	108
2^{42} bis 3 Uhr Anstieg zum Gipfel, dort angekommen sofort . .	100 (irregulär) 96 (irregulär)	120 (etw. irregul.)
Nach 1 Std. 20 Min. Umhergehen und Sitzen auf dem Gipfel .	96	100
Abstieg 4^{20} bis 6^{20}	(regelmäßig)	
Sofort bei Ankunft	100 (gut und regelmäßig)	

Blutdruck mit Trendelenburgscher Manschette bei Zuntz um 6^{30} (10 Minuten nach Ankunft) 103 bis 107 mm, in Ruhe 6. IV. Mittel 127. Der Blutdruck war also durch die Arbeit herabgesetzt.

Das Verhältnis der Pulsfrequenzen war bei den Versuchen auf der Tretbahn in Berlin ein ganz ähnliches gewesen. Beispielsweise hatte 48 Minuten nach Begin der Arbeit

	Zuntz	Neuberg
	111	109 Pulse
1 Stunde nach Beginn . . .	92	106 „
$1^1/_4$ „ „ „ . . .	121	126 „
10 Minuten später	102	106 „
Beim Schluß der Arbeit . .	136	130 „
6 Minuten später bei ruhigem Stehen	120	112 „

Während aber die Herztätigkeit zu Berlin in allen Stadien der Arbeit eine regelmäßige geblieben war, traten hier sehr deutliche Irregularitäten auf, sehr erheblich bei Zuntz unmittelbar nach der Ankunft auf dem Gipfel, weniger ausgesprochen bei Neuberg. Diese Unregelmäßigkeiten dürften wohl dadurch zustande kommen, daß die Anstrengung des Herzens bei der Arbeit in der verdünnten Luft eine größere, seine Sauerstoffversorgung eine weniger gute ist.

Die geleistete Arbeit läßt sich nur approximativ berechnen, da der Weg vielfach unregelmäßig war. Durch Heben des Körpers von dem Niveau des Observatoriums (2115 m) bis zum Gipfel (2715 m) leistete Neuberg eine Arbeit von 75 kg (Gewicht mit Kleidern) × 600 = 45 000 mkg und Zuntz eine solche von 69,15 × 600 = 41 490 mkg.

Zum Auswaschen der Unterkleider mußte das zur Verfügung stehende Quellwasser benutzt werden, in dem deshalb mehrere Chlorbestimmungen gemacht wurden, aus denen die entsprechenden Korrekturen zu berechnen waren. Ein Liter des Wassers enthielt 7,66 mg Cl; zum Waschen des Körpers und der Kleidung wurden im ganzen verwendet bei Neuberg 22,21 kg Wasser, entsprechend 170,1 mg Cl, bei Zuntz 25,18 kg Wasser mit 192,9 mg Cl. Das Waschwasser wurde für beide unter Ansäuerung mit Weinsäure so weit eingedampft, daß es in einer Flasche mit Patentverschluß nach Berlin gebracht werden konnte. Hier wurde es auf 1 l aufgefüllt und in Proben von je 50 ccm je drei N-Bestimmungen nach Kjeldahl und drei Gewichtsbestimmungen des Chlor ausgeführt. Der Befund war bei Neuberg 1038 mg N und 1155 mg Cl, die sich durch Abzug des Cl im Waschwasser auf 985 mg reduzieren.

Bei Zuntz waren die entsprechenden Zahlen 930 mg N und 1092 mg Cl, abzüglich 193 mg = 899 mg Cl. Zur Berech-

nung des Anteils der Lungen an der Perspiration dient die ungefähre Abschätzung des Sauerstoffverbrauchs und der Lungenventilation auf Grund der ausgeführten Körperbewegungen.

Für Zuntz liegen eine Anzahl Messungen der Lungenventilation und des Sauerstoffverbrauchs im Flachland und in verschiedenen Höhenlagen vor, woraus diese Größen für den vorliegenden Fall abgeschätzt werden können. Von Versuchen, in denen das subjektive Gefühl der Anstrengung ähnlich groß war wie bei der Guajara-Besteigung, kommen in Betracht:

1. Eine Anzahl Bergaufmärsche in Berlin (siehe Höhenklima und Bergwanderungen, Tab. XXII)
mit 22,7 l Minutenvolumen (unreduziert)
und 1314 ccm totalem Sauerstoffverbrauch.

2. Bergaufmärsche auf der Brienzer Rothornbahn (siehe ebenda)
mit 24,5 l Minutenvolumen
und 1336 ccm totalem Sauerstoffverbrauch.

3. Horizontalmärsche auf Col d'Olen in nur wenig größerer Höhe als die hier in Betracht kommende
mit 30 l Minutenvolumen
und 1177 ccm Sauerstoffverbrauch.

4. Horizontalmärsche auf dem Monte Rosa-Gipfel
mit 35 l Minutenvolumen
und 1074 ccm Sauerstoffverbrauch.

5. Marsch bergab (Rothornbahn, l. c. Tab. XXIII)
mit 26 l Minutenvolumen
und 932 ccm Sauerstoffverbrauch.

Wir können nun die gesamte Atmung wie folgt abschätzen:

1. Marsch bergauf: 148 Minuten à 30 l und 1200 ccm O-Verbrauch (abzüglich Ruhepausen, die unter 4 eingerechnet sind)	= 4440 l und 178 l O_2
2. Bergab: 120 Min. à 26 l und 930 ccm O-Verbrauch	= 3120 l und 112 l O_2
3. Nachtruhe: 480 Minuten à 5,5 l und 230 ccm O-Verbrauch	= 2640 l und 110 l O_2
4. Mäßige Bewegung: 562 Minuten à 9 l und 400 ccm O-Verbrauch . .	= 5060 l und 225 l O_2
	15 260 l und 625 l O_2

Der respiratorische Quotient war im Mittel der Morgenversuche jener Tage = 0,787.

Da 0,787 l CO_2	= 1,547 g wiegen
und 1 l O_2	= 1,429 g "
Gewichtsverlust auf 1 l O_2	0,118 g
auf 625 l O_2	74,0 g

Aus den Bestimmungen der Temperatur und relativen Feuchtigkeit ergibt sich der mittlere Dampfdruck

für die Marschzeit zu	2,03 mm
für die übrige Zeit zu	2,46 „
Mittel	2,25 mm

Rechnen wir wieder den Dampfgehalt der Exspirationsluft zu 28,46 mg, so wären davon 2,4 mg, entsprechend den 2,25 mm Spannung abzuziehen. Der Körper verliert also mit jedem Liter Exspirationsluft 26,06 mg Wasserdampf, mit 15260 l 398 g Wasserdampf. Rechnen wir hierzu den Verlust durch die CO_2-Ausscheidung mit 74 g, so ergibt sich der ganze insensible Lungenverlust zu 472 g, und es bleiben für Hautperspiration 2063 — 472 g = 1591 g.

Für Neuberg haben wir keine direkten Unterlagen zur Berechnung des Gewichtsverlustes durch die Lungen. Wir wissen nur, daß er in der Ruhe stärker ventiliert als Zuntz, etwa 7,7 l gegen 5,5 l. Beim Bergaufgehen hat er 5 kg mehr zu heben. Wir können deshalb seinen Gewichtsverlust durch die Lungen zu wenigstens 500 g annehmen. Von den 1790 g Perspiration fallen also etwa 1290 g auf die Haut.

Die von den Schweißdrüsen unabhängige Verdampfung ist wohl wegen der größeren Trockenheit der Luft etwas höher als in Berlin[1]), andererseits ist sie wenigstens bei Zuntz während der Nachtstunden durch die niedrige Lufttemperatur etwas reduziert. Wir werden daher für sie, wie in Berlin, 13 g pro Stunde rechnen, also

für die 22 Stunden 45 Minuten bei Zuntz = 296 g,
„ „ 22 „ 33 „ „ Neuberg = 294 g.

Es bleiben dann für die Tätigkeit der Schweißdrüsen

bei Zuntz . . . . 1295 g.
bei Neuberg . . . 996 g,

Die oben, S. 271, angegebenen Werte der N- und Cl-Aus-

[1]) Durch Erismann (Zeitschr. f. Biol. **11**, 1, 1875) und andere ist nachgewiesen, daß die Haut an trockene Luft bei gleicher Temperatur mehr Wasserdampf abgibt als an feuchtere, aber Nuttall (Arch. f. Hygiene **23**, 184, 1895) fand in seinen die ganze Haut mit Ausnahme des Kopfes umfassenden Versuchen den Effekt einer Schwankung der relativen Feuchtigkeit zwischen 13 und 64% so gering, daß er die Grenzen der zufälligen Versuchsabweichungen kaum überschritt.

scheidung betragen auf 1 l durch die Haut ausgeschiedenen Wassers

bei Zuntz $\frac{930}{1,591} = 584,54$ mg N

und $\frac{899}{1,591} = 565,05$ mg Cl,

bei Neuberg $\frac{1038}{1,290} = 804,66$ mg N

und $\frac{985}{1290} = 763,57$ mg Cl.

Für die eigentliche Schweißsekretion lauten die entsprechenden Zahlen:

bei Zuntz $\frac{930}{1,295} = 718,1$ mg N

und $\frac{899}{1,295} = 694,2$ mg Cl,

bei Neuberg $\frac{1038}{0,996} = 1042,2$ mg N

und $\frac{895}{0,996} = 989,0$ mg Cl.

Der Harn von Zuntz wurde in 2 Portionen gesammelt von abends 9^{15} bis vormittags 11^{30} in $14^1/_4$ Stunden 633 g Harn von 1,018 spez. Gew. = 621,8 ccm und 1,362 Vol.-$^0/_0$ N und 0,554 Vol.-$^0/_0$ Cl, also 8,47 g N und 3,44 g Cl — von 11^{30} bis 8^{00} abends also in den $8^1/_2$ Arbeitsstunden 250 g von 1,0155 spez. Gew. = 246 ccm mit 1,014 Vol.-$^0/_0$ N und 0,511 Vol.-$^0/_0$ Cl = 2,49 g N und 1,26 g Cl. Es wurde also im ganzen 10,96 g N im Harn entleert und es entfällt auf 1 g N im Harn $\frac{930}{10,96}$ = 84,8 mg N im Schweiß.

Der Harn der ganzen Versuchszeit enthielt 4,70 g Cl; es kommt also auf 1 g Cl im Harn $\frac{899}{4,7} = 191$ mg Cl im Schweiß.

Die Hauptmasse des Schweißes wurde während der Bergbesteigung in starker Sonnenglut sezerniert; wir dürfen sicher annehmen, daß auf diese Periode 800 mg N im Schweiß fallen; hier wurde also auf 1 g N im Harn durch die Haut $\frac{800}{249} = 321$ mg N entleert. — Für Neuberg fehlt die N-Bestimmung im Harn, dagegen liegen für den von 1148 g auf 2 l

aufgefüllten Harn 3 Cl-Bestimmungen vor, wonach der Harn im ganzen 6,09 g Cl enthielt. Es kommt also auf 1 g Cl im Harn $\frac{985}{6,09} = 162$ mg Cl im Hautsekret.

Einige Tage vor den eben beschriebenen Versuchen führten Durig und von Schrötter einen ganz ähnlich angelegten Versuch, nur mit sehr viel größerer Arbeitsleistung, aus. Sie stiegen nämlich im Schweißanzug vom Observatorium über die Hütte Alta Vista hinauf zum Gipfel des Pic de Teyde, d. h. von 2099 m auf 3695 m = 1596 m Steigung. Die Atemgröße und den Sauerstoffverbrauch bei dieser Arbeit können wir für Durig ziemlich annähernd schätzen auf Grund der analogen Versuche, die er am Bilkengrat in Vorarlberg ausgeführt hat. (Siehe Arch. f. d. ges. Physiol. **113**, 250.) In diesen Versuchen legte Durig den Weg von seiner Wohnhütte bis zum Gipfel des Bilkengrats in 2 Stunden 40 Minuten bis 2 Stunden 50 Minuten zurück. Dabei wurde 4 mal behufs Wechselns des Gassammelrohres und Ablesungen an der Gasuhr und Setzen der nötigen Wegmarken stillgestanden, so daß die eigentliche Marscharbeit weniger als 2 Stunden 40 Minuten = 160 Minuten umfaßte. Die Höhendifferenz war 2446 — 1326 m = 1120 m. Es kommen also auf die Minute Marschzeit etwas mehr als 7 m oder 420 m pro Stunde. Die relativ geringe Erhebung in der Zeiteinheit erklärt sich daraus, daß der Weg eine sehr lange, nur wenig ansteigende Strecke umfaßte, ehe der steile Anstieg begann. Ähnlich lagen die Verhältnisse auf Teneriffa, wo ebenfalls eine längere Wegstrecke durch die Cañadas mit geringer Steigung der steileren Anstiegroute zur Alta Vista und dem ebenfalls recht steilen Anstieg von dort zum Pic voranging. Von den Cañadas bis zur Alta Vista war ein Anstieg von 1033 m, der in 150 Minuten zurückgelegt wurde, d. h. 6,89 m pro Minute, fast genau der durchschnittlichen Steigung am Bilkengrat entsprechend. Die 563 m von der Alta Vista zum Gipfel wurden in 45 Minuten zurückgelegt, entsprechend einer Minutensteigung von 12,51 m. Den Abstieg vom Gipfel zur Alta Vista machte Durig in 30 Minuten, von hier zum Observatorium in 75 Minuten. Zur Charakteristik dieser Leistung sei erwähnt, daß Zuntz für den letzteren Abstieg ohne Berücksichtigung mehrerer kurzer Rasten 188 Minuten brauchte.

von Schrötter, der mit Durig zugleich um 7^{00} früh abmarschiert war, um dieselbe Tour auf den Pic und zurück auszuführen, kehrte erst um 5^{00} abends zurück, während Durig schon um 12^{30} die Tour absolviert hatte.

Zur Berechnung der Atmung von Durig bei dieser Leistung entnehmen wir seinen Versuchen am Bilkengrat die Angabe, daß er bei gutem Training im Aufstieg 50 bis 56,9 l pro Minute atmete und 2100 bis 2398 ccm O_2 verbrauchte. Mit diesem Sauerstoffverbrauch überwindet er je nach der Beschaffenheit des Weges Steigungen von 10,65 bis 12,3 m pro Minute. Diese Steigleistung entspricht derjenigen bei Besteigung des eigentlichen Kegels des Pic de Teyde. Auf den schwächer ansteigenden Strecken dürfte der Verbrauch infolge der größeren Geschwindigkeit kaum geringer gewesen sein. Beim Marsch bergab hatte Durig bei jenen Versuchen eine Minutenventilation von 37,6 bis 43,5 l und einen Sauerstoffverbrauch von 1376 bis 1457 ccm gegenüber 1255 ccm beim horizontalen Gehen. Auf Grund dieser Überlegungen kommen wir für den ganzen 16 Stunden 50 Minuten umfassenden Schweißversuch an Durig zu folgender Rechnung:

195 Min.	Aufstieg à 55 l	= 10725 l Ventil.	und 2300 ccm O_2	= 448,5 l O_2	
105 „	Abstieg à 40 l	= 4200 l „	„ 1300 „ O_2	= 136 l O_2 [1])	
310 „	rel. Ruhe à 10 l	= 3100 l „	„ 400 „ O_2	= 124 l O_2	
400 „	Bettruhe à 6 l	= 2400 l „	„ 230 „ O_2	= 92 l O_2	
		20425 l Ventilation	und	800 l O_2	

Die Ruheversuche in dieser Zeit ergaben im Mittel einen respiratorischen Quotient von 0,755.

755 ccm CO_2 wiegen	1,484 g
1 l O_2 wiegt	1,429 g
also Gewichtsabnahme	0,055 g

für die 800 l geatmeten Sauerstoff 43 g.

Für die Lungenverdampfung kommen folgende Temperaturen der eingeatmeten Luft in Betracht:

7^{00} vormittags	3^0
8^{00} „	6^0
9^{00} „	$8{,}4^0$
10^{00} „	$9{,}3^0$
11^{00} „	$10{,}1^0$
12^{00} „	$10{,}5^0$

[1]) Da in dem Abstieg einige kurze ansteigende Strecken inbegriffen sind, müssen wir diese relativ hohen Zahlen einsetzen.

Wegen der stärkeren Lungenventilation beim Steigen rechnen wir die Zeit von 7^{00} bis 11^{00} doppelt und kommen so zu einer mittleren Temperatur von 7,64°. Dieser Temperatur entspricht bei Dampfsättigung ein Dampfdruck von 7,5 mm. Die am Observatorium gemessene Wasserdampfsättigung der Luft war an diesem Tage morgens 7^{00} 57%, mittags 2^{00} 11%. Da die Abnahme mit Einwirkung der Sonne sehr schnell erfolgt, da außerdem in den bald von Durig erreichten höheren Regionen die Trockenheit der Luft eine noch größere war als in den Cañadas, können wir die mittlere relative Feuchtigkeit auf höchstens 20% veranschlagen, also den Dampfdruck auf 1,5 mm. Für die Exspirationsluft nehmen wir wie früher eine Sättigung bei 32° = 35,7 mm Spannung an. Die Verdampfung in den Lungen entspricht also 34,2 mm Dampfspannung = 36,19 mg Wasserdampf. Auf die im ganzen geatmeten 20425 l kommt also eine Verdampfung von 739 g Wasser. Unter Zuziehung der 44 g Gewichtsverlust mit der Kohlensäure kommen wir auf 783 g gesamten Gewichtsverlust durch die Lungen, so daß von der auf 2181 g ermittelten Perspiration 1398 g auf die Haut kommen. Hiervon ist bei der sehr trockenen Luft ein nicht unerheblicher Teil auf Verdampfung durch die Epidermis zu beziehen. Besonders während der Marschstunden, wo die Temperatur der Haut durch Sonnenstrahlung und Körpertätigkeit erhöht war, müssen wir für diese Verdampfung wenigstens den bei Zuntz in warmer Umgebung gefundenen Wert von 13 g pro Stunde ansetzen, so daß also in den $16^5/_6$ Stunden des Versuches ungefähr 220 g für direkte Hautverdunstung zu rechnen sind. Es bleiben also 1178 g für die Schweißabsonderung.

Zur Abwaschung des Körpers und zum Auswaschen der Kleider wurden 24,53 kg Quellwasser benutzt und auf 3453 g eingedampft. Hiervon wurden 2 Flaschen, enthaltend 971 + 909 = 1880 g, mit nach Berlin genommen und dort auf 2 l aufgefüllt. Hiervon enthielten

50 ccm im Mittel von 3 Proben = 9,7 mg N, also die
1880 ccm = 388 mg

50 ccm im Mittel von 5 Proben = 26,63 mg Cl, also die
1880 ccm = 1065 mg Cl

Hieraus ergibt sich für die 3453 g eingedampftes Schweiß-

wasser 713 mg N und 1957 mg Cl
das Waschwasser enthielt
(vgl. S. 271) $24{,}53 \times 7{,}66 =$ 188 „ „
also von der Haut ausgeschieden 1769 mg Cl

Wenn wir die ausgeschiedenen Mengen von 713 mg N und 1769 mg Cl mit Hilfe der beiden Zahlen für die Wasserabgabe der Haut auf 1 l umrechnen, so finden wir für 1 l Gesamtwasserabgabe der Haut 510 mg N und 1265 mg Cl. Für 1 l wirklichen Schweiß 605 mg N und 1502 mg Cl. In derselben Zeit wurden 906 g Harn entleert, wovon 333 g auf die 7 Nachtstunden, 573 g auf die 7 Stunden 50 Minuten des Marsches fielen. Die reichliche Harnsekretion während des Marsches ist um so bemerkenswerter, als in dieser Zeit gar keine Flüssigkeit aufgenommen wurde. Der gemischte Harn hatte ein spez. Gewicht $= 1{,}0235$ und enthielt in 5 ccm $= 77{,}7$ mg N $= 1{,}554$ Volumprozente N, also im ganzen $\frac{906 \times 1{,}554}{1{,}0235} = 13{,}76$ g N. — Der Chlorgehalt des gemischten Harns war $0{,}710\%$, also 6,385 g im ganzen. Es kommt also auf 1 g N im Harn 51,8 mg im Schweiß, auf 1 g Cl 277 mg.

Für den mit Durig gleichzeitig abmarschierenden von Schrötter verfügen wir über viel weniger brauchbare Unterlagen zur Abschätzung des Verbrauchs. Es ist aber anzunehmen, daß er für die Besteigung annähernd denselben Verbrauch hatte wie Durig, da er wesentlich mehr Zeit brauchte, trotzdem auch er ein gewandter Gänger ist, allerdings bei weitem nicht so leistungsfähig wie Durig. Er hatte die Alta Vista im Aufstieg erreicht, als Durig vom Gipfel wieder bis zu ihr zurückgekehrt war, d. h. er brauchte für den Aufstieg zur Alta Vista $3^h\,45'$, während Durig diesen Weg in $2^1/_2$ Stunden zurücklegte. Wohl entsprechend der in der Zeiteinheit geringeren Arbeitsleistung war die Schweißsekretion bei Schrötter wesentlich geringer. Sein Körpergewicht war am

31. III. 10^{55} abends . . .	64,395 kg
am 1. IV. 5^{30} nachmittags .	62,735 „
Abnahme	1660 g
Nahrungsaufnahme	990 g
	2650 g

Harn in der Nacht	272 g	
Harn am Tage . .	949 g	
	1221 g	1221 g
(kein Kot) Perspiration . .		1429 g

gegen 2181 g bei Durig.

Für die Gewichtsverluste durch die Lungen dürfen wir wohl annähernd denselben Wert einsetzen wie bei Durig. Die gesamte Arbeitsleistung war, wenn auch über längere Zeit verteilt, dieselbe. Wir müssen also für Gewichtsverlust durch die Lungen 783 g abrechnen, so daß nur 646 g auf die Hautverdampfung und nur etwa 450 g auf die eigentliche Schweißabsonderung entfallen würden. Zur Waschung des Körpers nach dem Versuche dienten 10,78 kg zur Waschung der Unterkleider 9,35 kg, im ganzen 20,13 kg Wasser mit $20{,}13 \times 7{,}06 =$ 154 mg Chlor. Das Waschwasser wurde auf 3120 g eingedampft und hiervon 1860 g zur Analyse auf 2 l aufgefüllt. 50 ccm enthielten im Mittel 8,6 mg, also die 1860 g = 344 mg N und die Gesamtmenge von 3120 g = 577 mg N.

Die Cl-Bestimmung ergab auf die 1860 g 509,5 mg Cl, also auf das gesamte Waschwasser (3120 g) = 855 mg Cl. Hiervon geht ab der Gehalt des Waschwassers 154 mg

also sezerniert 701 mg Cl.

Auf 1 l von der Haut abgegebenes Wasser entfallen

$$\frac{577}{0{,}646} = 893 \text{ mg N und } \frac{701}{0{,}646} = 1085 \text{ mg Cl.}$$

Auf 1 l eigentlicher Schweiß

$$\frac{577}{0{,}45} = 1282 \text{ mg N und } \frac{701}{0{,}45} = 1558 \text{ mg Cl.}$$

Der Harn wurde wiederum gesondert für die Nacht und für die Marschperiode gesammelt, erstere lieferte von 10^{55} bis 6^{45} früh $(7^{50}) = 272$ g, letztere von 6^{45} bis 2^{00}, also in $7^1/_4$ Stunden, 673 g; der Marsch war punkt 5^{00} beendet, um 6^{55} wurden noch 276 g Harn entleert, im ganzen also während der Arbeitsperiode von 12^{10} Stunden 949 g. Der Nachtharn hatte 1,027 spez. Gew., entsprechend 265 ccm mit $1{,}602\,^0/_0 = 4{,}25$ g N; der Marschharn hatte 1,015 spez. Gew., die 949 g entsprechen also 935 ccm mit $0{,}930\,^0/_0 = 8{,}695$ g N.

Der Gesamtstickstoff im Harn $= 4{,}25 + 8{,}695 = 12{,}945$ g.

Auf 1 g N vom Harn entfallen $\frac{577}{12,95} = 44,6$ mg N. Der Chlorgehalt war im Nachtharn $= 0,582\,^0/_0$
im Marschharn $= 0,596\,^0/_0$.

Es enthielt also im ganzen der Nachtharn = 1,54 g Cl
der Marschharn = 5,58 g Cl

Der gesamte Harn = 7,12 g Cl.

Auf 1 g im Harn kommen $\frac{701}{7,12} = 984$ mg Cl im Schweiß.

Einen Überblick über die Resultate gewährt nachstehende Tabelle, zu deren Erklärung das früher im Text Gesagte wohl

Tabelle I.

Versuchsperson und Ort	Hautausscheidung				Stickstoff auf 1 l		Chlor auf 1 l		Im Schweiß	
	gesamtes Wasser	Schweiß	N	Cl	Hautwasser	Schweiß	Hautwassr	Schweiß	N auf 1 g im Harn	Cl auf 1 g im Harn
	g	g	g	g	mg	mg	mg	mg	mg	mg
Neuberg, Berlin	1132	932	0,352	0,798	311	378	705	856	29,3	133,5
4 Arbeitsstunden	518	478								
Neuberg, Teneriffa	1290	996	1,038	0,985	805	1042	764	999	—	162
Zuntz, Berlin	1730	1527	0,456	0,682	263	298	394	447	75,3	277,8
4 Arbeitsstunden	888	842								
Zuntz, Teneriffa	1591	1295	0,930	0,899	585	718	565	694	84,8	199
Durig, Teneriffa	1398	1178	0,713	1,769	510	605	1265	1502	51,8	277
v. Schrötter, Teneriffa	646	450	0,577	0,701	893	1282	1085	1558	44,6	98,4

vollkommen ausreicht. Das auffallendste Ergebnis tritt in den Parallelversuchen in Berlin-Teneriffa an Neuberg und Zuntz zutage. Die auf 1 l Schweiß ausgeschiedene Stickstoffmenge ist bei Neuberg mehr als 3mal so groß auf Teneriffa als in Berlin, bei Zuntz etwa $2^1/_2$mal so groß. In der Chlorausscheidung besteht ein sehr viel geringerer Unterschied im selben Sinne. Für Durig und von Schrötter fehlt der direkte Vergleich, aber auch hier ist gegenüber allen Erfahrungen der N-Gehalt und der Cl-Gehalt des Schweißes auffallend hoch. Das wird sofort klar, wenn wir die anderen nach der gleichen Methode ausgeführten Untersuchungen zum Vergleich heranziehen. Schumburg und Zuntz (Physiologie des Marsches S. 205) teilen drei Versuche bei angestrengter Marschleistung mit, in denen pro 1 l Schweiß 243

bis 308, im Mittel 284 mg N ausgeschieden wurden. Es schien eine Beziehung zur absoluten Schweißmenge insofern zu bestehen, als bei reichlicherer Sekretion der Prozentgehalt des Schweißes an Stickstoff etwas niedriger wurde. Dieses Moment kann bei dem höheren N-Gehalt des Schweißes auf Teneriffa nicht mitspielen, denn sowohl Neuberg wie Zuntz haben dort während der ganzen Versuchszeit und auch während der Arbeitsstunden mehr Schweiß abgesondert als in Berlin. Auch gegenüber allen anderen vorliegenden Versuchen ist der auf Teneriffa gefundene Stickstoffgehalt des Schweißes ein außerordentlich hoher. Aus dem Buche von Zuntz, Loewy, Müller und Caspari: Höhenklima und Bergwanderungen, Tab. 30, entnehmen wir, daß bei den 6 Versuchspersonen keine jemals einen höheren N-Gehalt des Schweißes als 588 mg im Liter aufgewiesen hat. Speziell Zuntz zeigte bei jenen Versuchen Werte zwischen 263 und 588 mg. Der höchste Wert wurde bei einer relativ geringen Schweißsekretion während eines Aufstiegs von Brienz bis zu einer Höhe von etwa 1000 m beobachtet, während der Aufstieg bis zum Rothorngipfel den niedrigsten Wert, 263 mg N, lieferte. Daß die Arbeit in der Höhenluft prinzipiell den Prozentgehalt des Schweißes an Stickstoff erhöhe, dürfen wir nicht annehmen, denn unter den vorher zitierten Versuchen finden sich neben dem an Zuntz noch drei, in denen ebenfalls die N-Ausscheidung im Schweiß beim Aufstieg zum Rothorngipfel niedriger war als bei Arbeit in Berlin, resp. in Brienz, also in geringer Höhe, und nur in einem Falle ist der N-Gehalt des Schweißes in der Höhe wesentlich größer.

In bezug auf die Abhängigkeit des Cl-Gehaltes des Schweißes von klimatischen Faktoren lehren die Versuche von Cohnheim und Kreglinger[1]), daß bei anstrengender Arbeit im Hochgebirge, die zu sehr starker Schweißbildung führt, der Körper derart an Chlor verarmt, daß der Salzsäuregehalt des Magensaftes erheblich absinkt, und daß von nachträglich zugeführten großen ClNa-Mengen ein sehr großer Teil im Harn nicht wiedererscheint. Ganz überraschend hohe Werte für den Cl-Gehalt des Schweißes findet G. Viale bei seinen im Hochgebirge ausgeführten Untersuchungen (0,54 bis 1,37$^0/_0$ ClNa). Der Durch-

[1]) Cohnheim und Kreglinger, Zeitschr. f. physiol. Chem. 63, 1909, 41 und Atti del Lab. scientif. „A Mosso“ 3, 22.

schnitt übertrifft mit 0,5 bis 0,6 % Cl den höchsten von uns gefundenen Wert (von Schrötter) um das 5fache. Wenn derartige Verluste vorkämen, mußte bei Bildung von 3 bis 4 l Schweiß das ganze ClNa des Blutes ausgeschieden werden. Wir möchten deshalb glauben, daß die von Viale benutzte Methode zu Fehlern geführt hat. Er legt Cl-freies Filtrierpapier auf die sorgfältig gereinigte Stirn, bedeckt es mit mehreren Lagen Gummituch und fixiert das Ganze mit Bindentouren. Nach 6 bis 17 Minuten wird das Papier abgenommen, in ein verschließbares Wiegeglas gebracht und später gewogen, dann das Papier ausgekocht und im Waschwasser das Chlor titriert. Daß hierbei eine große Gefahr besteht, Wasser durch Verdampfung von dem Papier zu verlieren, ist unzweifelhaft, besonders wenn der Versuch, wie es hier stets der Fall war, in der verdünnten, trockenen, bewegten Luft des Hochgebirges meist bei praller Sonne ausgeführt wird. Kontrollversuche teilt Viale nicht mit. Wir möchten deshalb bis auf weiteres daran festhalten, daß so hohe Konzentrationen des Schweißes, wie sie Viale gefunden hat, in Wirklichkeit nicht vorkommen. Die ähnlich hohen Salzkonzentrationen, die Coerner in Luftbädern, Harnack in der Schweißwanne, Brieger und Disselhorst ebenfalls beim direkten Auffangen menschlichen Schweißes gefunden haben, dürften wohl auf absoluten Fehlern beruhen. Unsere Methode der Berechnung der Schweißsekretion aus der insensiblen Perspiration vermeidet diese Fehler. Sie zeigt unzweifelhaft, daß der bei der Arbeit in den Cañadas produzierte Schweiß wesentlich konzentrierter als sonst ist, wenn auch seine Konzentration bei weitem nicht die von jenen Autoren gefundenen Werte erreicht.

Da die enorme Steigerung der Ausscheidung von Stickstoff und in geringerem Maße von Chlor durch die Haut in den Cañadas aus der Höhe allein nicht erklärbar ist, müssen wir an die zweite hier in Betracht kommende klimatische Besonderheit, nämlich die hochgradige Trockenheit der Luft und vielleicht auch die sehr starken besonderen Einwirkungen auf die Haut, die sich neben der Trockenheit aus dem jähen Wechsel der Tag- und Nachttemperaturen, der Wärmewirkungen in Sonne und Schatten und der andauernden intensiven Lichtstrahlung bei Tage ergeben, denken.

Die zuerst von Zuntz und Schumburg gefundene, seitdem vielfach bestätigte Steigerung der Nierenabsonderung bei anstrengenden Märschen trat auch in den meisten unserer Versuche auffällig zutage. Besonders die Versuche von Durig und von Schrötter, die beide während des sehr anstrengenden Aufstiegs zum Teyde-Gipfel gar keine Flüssigkeit zu sich nahmen, sind in diesem Sinne bemerkenswert: Es muß allerdings betont werden, daß bei Durig regelmäßig in den Vormittagsstunden die stärkste Harnabsonderung erfolgt, daß ferner der Tee, den er vor dem Abmarsch genommen hat, bei ihm eine ausgesprochene diuretische Wirkung hat. Folgende Tabelle gestattet für 5 unserer Versuche einen direkten Vergleich der Harnmengen bei Ruhe und Arbeit. Bei Neubergs Besteigung des Guajara wurde der Harn der Arbeitsperiode nicht gesondert aufgefangen.

Tabelle II.

Harnsekretion bei Ruhe und Arbeit.

Experimentator und Ort	Ruhe		Arbeit.		Harnmenge pro Std.	
	Vers.-Dauer Std.	Harnmenge	Vers.-Dauer Std.	Harnmenge	Ruhe	Arbeit
Zuntz, Berlin . . .	12	270	$3^1/_3$	100	22,5	30,0
Neuberg, Berlin .	$15^3/_4$	690	$3^1/_2$	155	43,8	44,3
Zuntz, Teneriffa .	$14^1/_4$	633	$8^1/_2$	250	44,5	29,4
Durig, Teneriffa .	7	333	$7^5/_6$	573	47,6	73,1
v. Schrötter, Teneriffa	$7^5/_6$	272	$12^1/_6$	949	34,7	78,0
			$7^1/_4$	673	—	92,8[1]

Die erhebliche Steigerung der Harnmenge unter dem Einfluß der Arbeit, die nur bei Zuntz eine Ausnahme erleidet, ist um so bemerkenswerter, als der Körper gleichzeitig große Wassermengen mit dem Schweiß verliert. Daß es sich bei der Arbeitspolyurie im wesentlichen um vermehrte Wasserausscheidung handelt, geht aus dem spez. Gew. des Harns hervor. Dasselbe war

bei Zuntz im Marschharn . . . 1,015, im Ruheharn 1,018
bei v. Schrötter im Marschharn 1,015, „ „ 1,027.

Die nachfolgende Untersuchung von Dr. E. Berry, die

[1]) Nach Beendigung des anstrengendsten Teiles des Marsches sammelte von Schrötter den Harn und erhielt diesen sehr hohen Wert.

unter Leitung von Zuntz im vorigen Jahr ausgeführt wurde, dient unseren Resultaten nach einigen Richtungen als wertvolle Ergänzung. So können wir aus Berrys Versuchen entnehmen, daß die Menge des im Urin ausgeschiedenen, also dem Körper überflüssigen Chlors den Prozentgehalt des Schweißes an Chlor unbeeinflußt läßt, während der Stickstoffgehalt des Schweißes ein wenig wächst, wenn durch eiweißreiche Kost die 24stündige Ausscheidung im Urin aufs Dreifache ansteigt.

Berrys Versuche sind uns ferner eine weitere Stütze für die Annahme, daß ein an Stickstoff und Chlor so reicher Schweiß, wie wir ihn in Teneriffa ausschieden, unter den hiesigen klimatischen Bedingungen auch bei angestrengter Arbeit nicht sezerniert wird. Sein höchster Stickstoffwert ist 260 mg pro Liter, an Chlor hat er meist 600 bis 800 mg im Liter Schweiß, nur einmal kommt er mit 1300 mg den bei Durig und von Schrötter gefundenen Zahlen (1502 und 1558 mg) nahe.

Unseres Wissens ist der Einfluß der längeren Einwirkung der von uns untersuchten klimatischen Faktoren auf die Hauttätigkeit und speziell auf die Ausscheidung fester Stoffe im Schweiß anderweitig noch nicht mit einwandfreien Methoden studiert worden. Die Versuche von Kalmann[1]), der ja Höhenklima, Sonnenbäder und ähnliche Einwirkungen ins Auge gefaßt hat, beschäftigen sich nur mit der Wasserabgabe, über deren Modifikation wir nichts Bestimmtes aussagen können.

Noch höhere Konzentrationen des Schweißes, als wir auf Teneriffa gefunden hatten, geben Schwenkenbecher und Spitta[2]) bei einzelnen Versuchen an. Da es sich aber hier um sehr geringe Schweißmengen handelt, sind die Fehlermöglichkeiten recht groß. Da, wo größere Mengen sezerniert wurden, bleiben die Konzentrationen unter den von uns auf Teneriffa gefundenen.

---

[1]) Kalmann, Über die Beeinflussung der Wasserdampfabgabe der Haut durch klimatische Faktoren usw. Arch. f. d. ges. Physiol. **112**, 561.

[2]) Schwenkenbecher und Spitta, Ausscheidung von Kochsalz und N durch die Haut. Arch. f. experim. Pathol und Pharmakol. **56** 284, 1907.

Über die Abhängigkeit des Stickstoff- und Chlorgehaltes des Schweißes von der Diät.

Von

Elmer Berry, B. S., M. P. E., Young Men's Christian Association College Springfield, Mass.

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

(Eingegangen am 29. Juli 1914.)

Mit 1 Figur im Text.

Die vorliegende Untersuchung wurde auf Vorschlag des Herrn Professor N. Zuntz und unter seiner Leitung ausgeführt.

Zweck der Untersuchung war, die Menge des bei der Arbeit ausgeschiedenen Schweißes und seine Zusammensetzung in bezug auf Stickstoff und Chlor bei niedrigem, mittlerem und reichem Eiweißgehalt der Kost zu ermitteln.

Als Versuchsobjekt diente Verfasser dieser Mitteilung. Seine Körperlänge betrug zurzeit 173 cm, das Körpergewicht ungefähr 62 kg. Er war 34 Jahre alt, vollständig gesund, gymnastisch wie athletisch ausgebildet, doch damals nicht im Training. Während körperlicher Anstrengungen schwitzt er ausgiebig und neigt zur Ernährung mit eiweißarmer Kost.

Die Schweißsammlung erfolgte in dazu eigens bestimmten Unterkleidern, die aus einem halbwollenem Anzug von mittlerer Schwere bestanden. Außerdem wurde ein Paar weiße Socken benutzt; der sich an den Händen und auf dem Gesicht bildende Schweiß wurde mit Taschentüchern abgewischt. Über dem Unterzeug trug ich ein Paar lange Turnhosen und eine lose sitzende Laboratoriumsjacke. Gewöhnliche Turnschuhe aus Leder mit Korkeinlagen bildeten die Fußbekleidung. Von Zeit zu Zeit wurde die Arbeit unterbrochen, damit der Schweiß nicht in die äußeren Kleidungsstücke eindrang. 20 Minuten Ruhepause nach einer Stunde Arbeit schienen dafür eine zweckmäßige Einteilung. Vor Beginn der Versuchsreihen wurde das

Unterzeug gründlich ausgewaschen und nachher eine Kontrolle, ob es stickstoff- und chlorfrei sei, ausgeführt. Sodann wurde der Körper mit einem Schwamm gehörig gereinigt, das dazu verwendete Wasser gesammelt und auf Stickstoff wie Chlor zur Kontrolle analysiert. Nach Beendigung der Arbeit wurden die Unterkleider in ein großes, mit ca. 15 bis 20 l destilliertem Wasser gefülltes Gefäß gebracht, darin kräftig durchgeknetet und dann 24 bis 48 Stunden, währenddessen man sie einige Male herumrührte, wässern gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit ging man an ein wiederholtes Spülen der Wäsche, worauf sie möglichst vollkommen ausgewrungen wurde. Das Wasser wurde dann auf einem großen Wasserbad auf 1 bis 2 l eingedampft, sein Volumen gemessen, filtriert und der Stickstoff- und Chlorgehalt bestimmt.

Der Stickstoff wurde wie üblich nach Kjeldahl ermittelt. Beim Chlor verfuhr ich nach der von Arnold modifizierten Volhardschen Titriermethode mit Silber- und Rhodanammoniumlösung. Für jede Bestimmung benutzte ich 10 ccm Harn und 100 ccm Schweißwasser.

Die Kostformen.

Die Versuche am 7., 10., 12., 17. und 19. wurden bei der üblichen Kost mit einem mäßig großen Proteingehalt ausgeführt. Die N-Ausscheidung im Harn betrug 10 bis 14 g. Bei den Versuchen am 22., 24. und 26. Juli war der Eiweißgehalt der Nahrung, die hauptsächlich aus Stärke, Kartoffeln, Grieß und Plasmon bestand, auf eine sehr niedrige Stufe herabgesetzt. Darauf folgte eine Periode mit einer relativ eiweißreichen Diät, in der Fleisch, Eier, Bohnen und Schoten nach Belieben ohne jede Einschränkung verzehrt wurden. Der 29. Juli stellt einen Übergang zwischen der eiweißarmen und eiweißreichen Kostperiode dar, dann folgen am 31. Juli, 2. und 7. August die Versuche bei sehr gesteigertem Eiweißgehalt der Nahrung und 14,6 bis 22 g N im Harn. Wir haben demnach fünf Versuche bei einer Nahrung, deren Eiweißgehalt den Durchschnitt nicht übertrifft, drei mit eiweißarmer und drei mit eiweißreicher Kost.

Die Arbeit.

Die Arbeit wurde auf dem hier abgebildeten feststehenden Ergometer-Zweirad ausgeführt, das nach dem Prinzip der

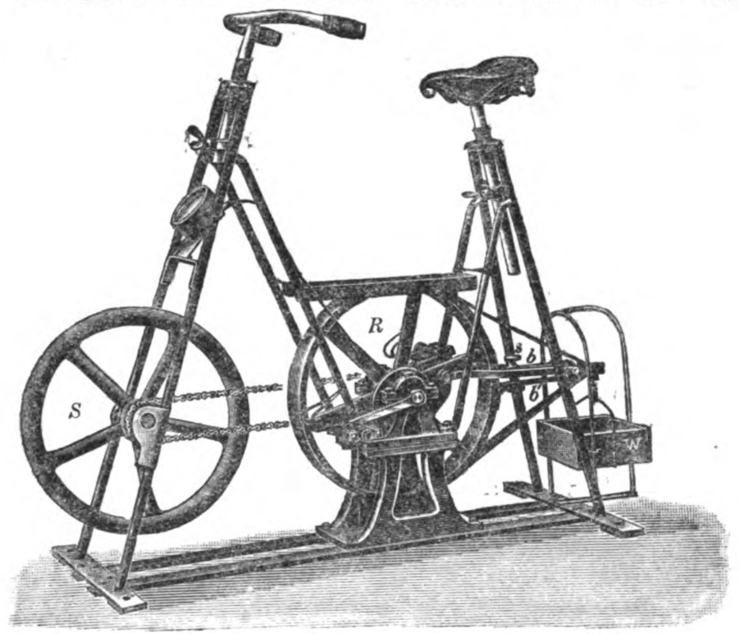


Fig. 1.
Ergometer für Arbeit der unteren Extremitäten. Konstruiert von Gustav Voigt.

Navierschen Bremse Messung der Arbeit ermöglicht. Das stählerne Bremsband umspannt das Rad *R* und setzt sich in die beiden horizontalen Balken *b* und *b'* fort, die durch die Schraube *s* mehr oder weniger stark einander genähert werden können. Am peripheren Ende dieses Doppelbalkens hängt die Wagschale *W*, die mit entsprechenden Gewichten belastet wird. Bei der Arbeit wird die Schraube *s* so angezogen, daß die Belastung in horizontaler Stellung der Balken gerade in der Schwebe bleibt. Kleine Reibungsdifferenzen werden mit Hilfe einer von Zuntz[1]) früher beschriebenen, an seinem Bremsergometer für Handarbeit zuerst angewandten mechanischen Regulation ausgeglichen. Die Arbeit, die bei Drehung des gebremsten Rades geleistet wird, ergibt sich aus dem Gewicht, das an der Schneide der Wagschale *W* wirkt, multipliziert mit dem Wege, den es zurücklegen würde, wenn es fest mit dem Rade *R* verkuppelt wäre. Dieser Weg ist gleich seiner doppelten Entfernung von der Achse des Rades *R* ($2 \times 47{,}5$ cm $\times \pi$) $= 3$ m. Das Gewicht der mit 0,5 kg belasteten Wagschale und

[1]) S. Verhdl. d. Berl. Physiol. Ges. 1898—99, 4—7.

des Gestänges wurde mit Hilfe einer Wage zu 4,1 kg bestimmt. Die bei einer richtig gebremsten Umdrehung geleistete Arbeit beträgt also 12,3 mkg [1]). Die genaue Arbeit ergibt sich aus

[1]) Infolge eines Mißverstehens der von mir zum Messen des Zuges am Bremsband gegebenen Vorschriften hat Dr. Berry diesen Zug zu niedrig bestimmt, nämlich zu 3,7 statt zu 4,1 kg. Daher nahm er als Arbeitsleistung pro Umdrehung 11,1 mkg statt 12,3, welche richtige Zahl ich oben im Text eingesetzt habe. Die geleistete Arbeit war also stets um 10,8% größer als in den Tabellen angegeben. Die Rechnungen, zu denen die Arbeitsgröße in dieser Abhandlung benutzt wurde, werden durch diesen Fehler nicht beeinflußt. Ich habe deshalb Berrys Zahlen nicht korrigiert. Er benutzt ja die Arbeitsgröße nur, um die Größe des Gewichtsverlusts durch die Lungen zu berechnen. Diese Rechnung bleibt natürlich richtig, da er in den Respirationsversuchen ebenso wie in den eigentlichen Schweißversuchen die gleiche zu niedrige Zahl für den Arbeitswert einer Umdrehung des Rades eingesetzt hat. — Wir können aber die richtigen Werte der Arbeit benutzen, um mit deren Hilfe den Energieaufwand pro mkg am Zweirad geleisteter Arbeit zu berechnen. Die richtiggestellte Minutenarbeit ist in dem ersten der obigen Versuche (S. 291) gleich 574,4 mkg (statt 518,4).

Vom Gaswechsel dieses Versuchs . . = 1388,1 ccm O und 1247,3 ccm CO_2
ziehen wir den Ruheverbrauch ab . . = 244,9 ccm O und 209,6 ccm CO_2
Es entsprechen dann der Arbeit . . . = 1143,2 ccm O und 1037,7 ccm CO_2 · R.Q. = 0,908.

Bei diesem Quotienten erzeugt 1 ccm O = 4,934 cal. 1 mkg Arbeit (äquivalent 2,353 cal) $= \frac{1143,2 \times 4,934}{574,4} = 9,819$ cal. Der Wirkungsgrad der menschlichen Arbeit ist also hier $= \frac{2,353 \times 100}{9,819} = 23,96\%$.

Der zweite Respirationsversuch ergab bei 614,9 mkg Arbeit einen
Minutengaswechsel = 1409,4 ccm O und 1376,4 ccm CO_2
ab Ruheverbrauch . = 244,9 ccm O und 209,6 ccm CO_2
Den 614,9 mkg Arbeit entsprechen . . . = 1164,5 ccm O und 1166,8 ccm CO_2 · R.Q. = 1,00.

Bei diesem Quotienten bedeutet 1 ccm O = 5,047 cal, 1 mkg Arbeit = 9,562 cal und der Wirkungsgrad ist 24,61%. Es handelt sich hier natürlich noch um einen Bruttowert des Wirkungsgrades, indem der Reibungswiderstand des Rades und die innere Reibung der Muskeln nicht abgerechnet sind. Die Zahlen sind also direkt vergleichbar mit denen, die Benedict und Carpenter*) mit Hilfe des auf ganz andere Art gebremsten Zweiradergometers erhielten. Diese Autoren fanden ohne Korrektur für den Leergang ähnliche, jedoch etwas niedrigere Werte, nämlich 19,7 bis 21,6% Wirkungsgrad. In späteren Versuchen erzielten Benedict und Cathcart**) höhere Wirkungsgrade zwischen 20,8 und

*) Benedict und Carpenter, The efficiency of the human body as a machine. Washington 1909.

**) Benedict und Cathcart, Muscular Work. Washington 1913.

der an einem Tourenzähler abgelesenen Zahl der Umdrehungen und dem wie eben beschrieben ermittelten Arbeitswert der einzelnen Umdrehungen. Das mittels einer Gliederkette mit *R* verbundene Schwungrad *S* hat genügende Trägheit, um die Arbeit so gleichmäßig zu gestalten, wie bei einem auf asphaltierter Straße dahinrollenden Zweirad. Das Bremsergometer befand sich in einem Raum des Tierphysiologischen Instituts, wo darauf geachtet wurde, daß während der Versuchsdauer, die 4 Stunden umfaßte, keine Zugluft den Fahrenden belästigte.

Versuchsanordnung.

Am Tage vor dem Versuch begann ich, von 5 Uhr nachmittags ab den Harn zu sammeln. Am nächsten Morgen um 8 Uhr wurden die nötigen Vorbereitungen getroffen: das Zweirad instand gesetzt, der Barometerstand notiert und der Körper mit einem Schwamm abgewaschen. Das dazu benutzte Wasser diente nachher zur Kontrolle, daß keine nennenswerten Mengen Stickstoff oder Chlor sich auf der Haut befanden. Nachdem der Körper getrocknet war, wurde die Blase entleert und das Körpergewicht bestimmt. Im Laufe der Untersuchungen stellte sich die Einteilung von 1 Stunde Arbeit mit nachfolgenden 20 Ruheminuten als die zweckmäßigste heraus. Zu Beginn und Ende jeder Arbeitsperiode wurden Thermometer, relative Feuchtigkeit der Zimmerluft und Tourenzähler abgelesen. Unmittelbar nach Beendigung der letzten Arbeitsperiode wurde die Rektaltemperatur gemessen. Alle Einnahmen, feste wie flüssige, und der gesamte, während der Versuchszeit entleerte Harn wurden gewogen. Der Arbeits- und Ruheharn wurden getrennt analysiert, wobei sich interessante Beobachtungen ergaben. Nach Schluß des Versuchs erfolgte wiederum eine Abwaschung des Körpers, wonach das Waschwasser mit den Unterkleidern in der S. 286 beschriebenen Weise behandelt wurde.

Ich gebe nunmehr als Beispiel das Protokoll des ersten Versuchs, bei dem nur halb so lange als in den späteren gearbeitet wurde.

25,2% (l. c. Tab. 116 und 117), also mit Berrys Werten gut übereinstimmend. Ich gedenke demnächst diese Frage auf Grund von in jüngster Zeit ausgeführten Versuchen eingehender zu behandeln.

N. Zuntz.

Tabelle I.

Versuch 1.

Datum: 7. VII. 1913. Barometer: 760 mm.

Arbeitsperioden	1	2	3	4	
Zeit: Anfang . . .	10^{45} morg.	11^{43}	12^{30} mitt.	1^{10} mitt.	
Ende	11^{15} "	12^{13}	1^{00} "	1^{40} "	
Dauer . . .	30 Min.	30 Min.	30 Min.	30 Min.	Gesamtdauer: 2 Std.
Zimmertemperatur:					
Anfang . . .	17,8	18,6	18,0	18,0	
Ende	18,4	18,0	18,0	18,2	
Mittel . . .	18,1	18,3	18,0	18,1	Gesamt-Mittel: 18,1.
Relative Wasserdampfsättigung der Zimmerluft (Prozente):					
Anfang . . .	58	58	62	68	
Ende	58	62	68	70	
Mittel . . .	58	60	65	69	Gesamt-Mittel: 63 %.
Arbeit:					
Belastung . . .	0,5 kg	0,5 kg	0,5 kg	0,5—0,2 kg	
Tourenzähler:					
Ende	69122	70669	71948	73267	4920 Umdrehungen mit 0,5 kg Belastung = 54612 mkg
Anfang	67691	69122	70669	71948	656 Umdrehungen mit 0,2 kg Belastung = 7085 mkg
Zahl d. Umdrehung.	1431	1547	1279	1319	
Geleistete Arbeit .					61697 mkg

Berechnung der Wasserabgabe von der Haut.

Einnahme:		Ausgabe:	
Körpergewicht zu Beginn	62370,0 g	Körpergewicht am Schluß . . .	60865,0 g
Feste Nahrung	79,0 g	Entleerter Harn	323,0 g
Getrunkenes Wasser	337,0 g	C_2-Verlust i. d. ausgeatmeten Luft	70,7 g
	62786,0 g	H_2O-Verlust i. d. ausgeatmet. Luft	98,0 g
	— 61356,7 g		61356,7 g
Wasserabgabe von der Haut . .	1429,3 g		

Analyse.

	Stickstoff				Chlor			
	H_2SO_4 1 ccm	NaOH 3 mg N	Menge g N	Mittel	$AgNO_3$ n/10	Rhodan n/10	Menge	Mittel
Harn. Gesamtharn: 1105 ccm			11,072	11,105	30	2,8 (5,6)[1]	9,561	9,620
			11,138		30	2,7 (5,4)	9,678	
Schweiß. Badewasser .	10,0	6,7	0,0658	0,0668	10	6,6[2]	0,0802	0,0661
zur Kontrolle: 665 ccm .	10,0	6,6	0,0678		10	7,8	0,0519	
Waschung am Schluß . .	22,6	12,6	0,2850	0,2879	10	0,4	0,3234	0,3217
950 ccm	20,0	9,8	0,2907		10	0,5	0,3200	

[1]) Die Hälfte des Filtrats wurde mit der n/10-Rhodanlösung zurücktitriert.

[2]) Hier wurde das gesamte Filtrat nach genügendem Auswaschen mit Rhodanammonium zurücktitriert.

Die Schweißmenge.

Da es bei dieser Arbeit darauf ankam, das wirkliche Gewicht des Schweißes genau zu kennen, mußten nicht nur das Anfangs- und Endgewicht des Körpers, die eingenommene Nahrung und Flüssigkeit und der entleerte Harn (Faeces wurden nicht ausgeschieden) quantitativ bestimmt werden, sondern auch der Körpergewichtsverlust, der durch Abgabe von Kohlenstoff und Wasser in der ausgeatmeten Luft zustande kommt.

Kohlenstoffabgabe in der Ausatmungsluft.

Um den durch ausgeatmete Luft bedingten Gewichtsverlust des Körpers festzustellen, war es notwendig, den Gaswechsel der Versuchsperson zu ermitteln. Es wurden drei derartige Versuche angestellt, einmal während des Fahrens auf dem Rade, das genau wie bei den Schweißversuchen ausgeführt wurde, dann beim ruhigen Sitzen auf einem Stuhl und drittens beim Sitzen auf dem Ergometer. Im folgenden geben wir in Kürze die dabei gefundenen Daten.

a) Respirationsversuche bei Arbeit.

Die Sammlung der Gasproben begann 1^{21}, d. h. 47 Minuten nach Beginn der Arbeit. Die an der Gasuhr gemessene Lungenventilation betrug im ersten Versuch 28 l pro Minute bei $23{,}2^0$ und 755,8 mm Luftdruck. Hieraus reduziertes Volumen gleich 24,7 l. Die Analyse der Ausatmungsluft ergab im Mittel zweier Bestimmungen $5{,}085\,^0/_0$ CO_2, $79{,}505\,^0/_0$ N und $15{,}41\,^0/_0$ O_2. Hieraus Sauerstoffdefizit gleich $5{,}62\,^0/_0$, respiratorischer Quotient gleich 0,898.

Aus diesen Daten folgt: Gesamtverbrauch an Sauerstoff 1388,1 ccm pro Minute, Kohlensäureausscheidung 1247,3 ccm, die Arbeit war 518,4 mkg pro Minute (in Wahrheit 574,4 mkg, vgl. Fußnote S. 288, demgemäß pro mkg Arbeit 2,68 ccm O_2 und 2,406 ccm CO_2. In Gewicht macht diese Kohlensäureausscheidung 4,716 mg, die Sauerstoffaufnahme 3,832 mg. Demgemäß wurde das Körpergewicht für jedes mkg Arbeit um 0,884 mg vermindert.

Nach Beendigung dieses Versuchs wurde mit der Arbeit fortgefahren und 4 Minuten später mit der Sammlung einer

neuen Gasprobe begonnen. Diesmal war die Lungenventilation 29,3 l pro Minute bei 25,5° an der Gasuhr und demselben Barometerstand wie vorher. Hieraus ergibt sich das reduzierte Gasvolumen zu 26,4 l. Die Exspirationsluft enthält im Mittel zweier Analysen: 5,245 % CO_2, 79,16 % N, 15,595 % O_2. Das gibt ein Sauerstoffdefizit von 5,34 % und einen CO_2-Verbrauch von 5,215 %. Respiratorischer Quotient gleich 0,976. Der Gesamtverbrauch an O_2 war 1409,4 ccm, die Kohlensäureausscheidung 1376,4 ccm. Die Arbeit war gleich 555 mkg pro Minute. Hieraus ergeben sich pro mkg Arbeit 2,539 ccm O_2 und 2,480 ccm CO_2, das sind dem Gewicht nach 4,901 mg CO_2 und 3,629 mg O_2, also Gewichtsverlust pro mkg Arbeit gleich 1,272 mg. Im Mittel der beiden Versuche haben wir demnach pro mkg mit einem Verlust von 1,078 mg zu rechnen.

b) Respirationsversuche in der Ruhe.

Zur Kontrolle des Gaswechsels in den Pausen der Arbeit dienen zwei weitere Paare von Respirationsversuchen, in deren einem ich in bequemer Lage auf einem Stuhle saß, während ich in dem anderen den üblichen Sitz auf dem Zweirad einnahm, ohne zu arbeiten. Die Zimmertemperatur betrug damals, am 28. Juli 1913, 21,9°. Auf dem Stuhle sitzend atmete ich pro Minute 6,782 l bei einem Druck von 762,2 mm und einer Temperatur von 22,95°. Die Analyse ergab im Mittel der beiden Bestimmungen 3,485 % CO_2, 79,515 % N und 17,00 % O. Hieraus Sauerstoffdefizit gleich 4,03 %, Sauerstoffverbrauch pro Minute 244,9 ccm gleich 349,91 mg. Kohlensäureausscheidung 209,6 ccm gleich 414,28 mg. Das Übergewicht der Kohlensäure über die Sauerstoffaufnahme beträgt also pro Minute 64,37 mg. Der Versuch auf dem Zweirade wurde am selben Tage bei gleichem Barometerstand und gleicher Zimmertemperatur ausgeführt. Das Atemvolumen betrug 9,42 l bei 762,2 mm Barometerstand und 25,25° = 8,428 l bei 0° und 760 mm. Das Mittel der zwei Analysen war: 2,725 % CO_2, 79,255 % N_2, 18,02 % O_2. Sauerstoffdefizit = 2,94 %. Das ergibt eine Aufnahme von 247,8 ccm Sauerstoff pro Minute gleich 354,08 mg, Ausatmung von 226,7 ccm CO_2 gleich 458,50 mg, demnach Gewichtsverlust durch Kohlensäureausscheidung 104,42 mg pro Minute.

Aus den Respirationsversuchen geht hervor, daß der durch Ausatmung von Kohlenstoff bedingte Körpergewichtsverlust während der Arbeit 1,078 mg pro mkg Arbeit betrug; 64,37 mg pro Minute während ruhigen Sitzens auf einem Stuhl und 104,42 mg pro Minute bei Sitzen auf dem Zweirad. So verlor z. B. in Versuch 5 am 22. Juli der Körper bei der Arbeit $142380 \cdot 1{,}078$ mg $= 153{,}5$ g durch das Übergewicht der ausgeschiedenen Kohlensäure über den aufgenommenen Sauerstoff. Dieser Verlust vollzog sich in der Zeit des wirklichen Arbeitens. Dazwischen ruhte ich aber während dieser 4 Stunden 39 Minuten lang. Hierfür ist $39 \cdot 0{,}06437 = 2{,}5$ g zu obigem Wert zu addieren. Der Gesamtverlust durch das Übergewicht der Kohlensäure beträgt also 156 g. Auf diese Weise wurde der durch Kohlenstoffausscheidung zustande kommende Gewichtsverlust in allen Versuchen berechnet.

Die bei der Atmung ausgeschiedene Wassermenge.

Der durch den Wasserdampf in der exspirierten Luft bedingte Körperverlust ist, wie ohne weiteres klar, von der relativen Feuchtigkeit der inspirierten Luft abhängig. Es ist bis vor kurzem allgemein angenommen worden, daß die ausgeatmete Luft bei Körpertemperatur mit Wasserdampf gesättigt sei. Inzwischen hat Galeotti[1]) nachgewiesen, daß diese Annahme nicht zu Recht besteht. Weiter haben Loewy und Gerhartz[2]) im Laboratorium von Zuntz gezeigt, daß die Temperatur der ausgeschiedenen Luft unterhalb der Körpertemperatur liegt und je nach der Ventilation in den Lungen Schwankungen unterworfen ist. Es war also vor allem notwendig, die Wärme der Ausatmungsluft unter den im Versuch vorliegenden Bedingungen zu bestimmen. Folgender Versuch wurde von Professor Loewy am 7. August 1913 an dem Verfasser ausgeführt, der möglichst in demselben Tempo und mit demselben Aufwand an Energie wie in den Schweißversuchen

---

1) Galeotti, Über die Ausscheidung des Wassers bei der Atmung. Diese Zeitschr. 46, 173, 1912.

2) A. Loewy und H. Gerhartz, Über die Temperatur der Exspirations- und Lungenluft. Diese Zeitschr. 47, 343 und Arch. f. d. ges. Physiol. 155, 231, 1912.

auf dem Bremsergometer fuhr. Die Beobachtungen begannen $^1/_2$ Stunde nach Anfang der Arbeit. Wegen der Meßmethoden verweise ich auf die Arbeit von Loewy und Gerhartz.

Tabelle II.

7. VIII. 1913.

Temperatur der ausgeatmeten Luft.

Gasuhr-ablesung	Atem-volumen pro Min.	Zeit Min.	Temperatur der ausgeatmeten Luft	
34,615	—	—	—	
54,520	19,905 × 2	$^1/_2$	—	
62,610	8,090 × 4	$^1/_4$	33,7°	Körpertemperatur 38,4°
72,380	9,770 × 4	$^1/_4$	33,8°	Zimmertemperatur 21,5°
80,650	8,270 × 4	$^1/_4$	33,8°	
89,310	8,660 × 4	$^1/_4$	33,8°	
7,38	—	—	—	Tourenzähler:
16,40	9,02 × 4	$^1/_4$	—	92377 12h 18′
22,74	6,34 × 4	$^1/_4$	33,8°	92760 12h 25′
29,26	6,52 × 4	$^1/_4$	33,9°	
37,05	7,79 × 4	$^1/_4$	34,1°	383 Umdrehungen
45,38	8,33 × 4	$^1/_4$	—	in 7 Minuten
51,98	6,60 × 4	$^1/_4$	34,2°	= 4251 mkg
59,95	7,97 × 4	$^1/_4$	34,25°	607 „ pro Minute,
68,47	8,52 × 4	$^1/_4$	34,25°	16 Atemzüge pro Min.

Die Durchschnittstemperatur der ausgeatmeten Luft ergibt sich hieraus zu 33,8°.

Unter der Annahme, daß die Ausatmungsluft mit 33,8° den Körper verläßt und für diese Temperatur mit Wasserdampf gesättigt ist, gestaltet sich die Berechnung des Wasserverlustes bei Ruhe und während der Arbeit auf dem Zweirad folgendermaßen. Als Beispiel diene Versuch 9 (31. VII. 1913).

Ruheperiode, auf dem Zweirad sitzend.

Zimmertemperatur 21°, Barometer 761,4 mm, Feuchtigkeit 49,25 %.

Ausgeatmete Luft gleich 9,42 l pro Minute (siehe Respirationsversuch). 9,42 × 240 Minuten = 2251 l. 1 l Luft bei 33,8° wiegt 1,1501 g (log 06 075).

06075
35238 = 2251 l
41313 = 2,589 kg
50243 = 31,8 g   1 kg gesättigte Luft bei 33,8° enthält 31,8 g H_2O.
91556 = 82,33 g ausgeatmetes Wasser.

Eingeatmete Luft gleich 2251 l bei 21°, Barometer 761,4 mm, Feuchtigkeit 49,25 %. 1 l Luft bei 21° wiegt 1,2003 g (log 07 929). Die Abweichung des atmosphärischen Druckes von 760 mm ist minimal und kann deshalb vernachlässigt werden.

07 929
35 238
43 167 = 2,702 kg
18 327 = 15,25 g H_2O in 1 kg Luft
61 494
69 241 = 49,25 % Feuchtigkeit
30 735 = 20,29 g eingeatmeter Wasserdampf.

82,33 — 20,29 = 62,04 g H_2O sind beim Sitzen auf dem Ergometer abgegeben worden.

Die analoge Berechnung des Wasserverlustes beim Sitzen auf einem Stuhl unter denselben Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen (6,782 l pro Minute) ergibt 0,186 88 pro Minute (log 27 152).

Für die Arbeitsperiode haben wir folgende Rechnung:

28,65 l Luft bei einer Minutenarbeit von 536,7 kg.

1 mkg = 53,38 ccm Lungenventilation

31. VII. = 142 848 mkg Arbeit, entsprechend 7625,5 l Ventilation.

Ausgeatmete Luft.

7625,5 l Luft waren bei 33,8° mit Wasserdampf gesättigt.

1 kg Luft enthält, wie oben berechnet, bei 33,8° 31,8 g Wasser. Die ausgeatmeten 7625,5 l wiegen 7625,5 × 1,1501 = 8,770 kg und enthalten also 278,9 g Wasser.

Eingeatmete Luft.

Die eingeatmete Luft, 7625,5 l, hatte eine Temperatur von 21,0° und 761,4 mm Druck. Dabei wiegt 1 l = 1,2003 g, also die 7625,5 l = 9,153 kg. Diese enthalten bei 21° pro 1 kg 15,25 g Wasserdampf, also im ganzen 13,96 g. Hiervon 49,25 % relative Feuchtigkeit gleich 68,74 g mit der Atemluft eingenommenes Wasser.

278,9 — 68,7 g = 210,2 g H_2O sind während der Arbeit abgegeben worden.

Tabelle III.

Datum	Vers.-Dauer	Gesamt-Arbeit	Ges.-Gewichts-verlust	Schweiß	Stickstoffausscheidung im Urin Ruhe	Stickstoffausscheidung im Urin Arbeit	Stickstoffausscheidung im Urin 24 stünd. Menge	Stickstoffausscheidung im Schweiß Kontrolle	Stickstoffausscheidung im Schweiß Schweiß	Chlor im Urin Ruhe	Chlor im Urin Arbeit	Chlor im Urin 24 stünd. Menge	Chlor im Hautsekret Kontrolle	Chlor im Hautsekret Schweiß
1913	Std.	kg	kg	kg	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g
22. VII.	4	142380	2,641	2,279	4,7799	1,3746	6,1545	0,0299	?	4,7283	2,3751	7,1034	0,0602	2,9977
26.	4	130024	2,794	2,464	4,9374	1,8810	6,8184	0,0391	0,4074	2,7063	3,1944	6,9007	0,0363	1,5644
24.	3—45	119671	2,479	2,169	5,0544	1,9517	7,0061	0,0266	0,3357	2,0539	2,6876	4,7415	0,0389	1,6048
17. VII.	4	123754	2,348	2,025	7,6955	2,6037	10,2992	—	0,3192	5,9685	3,3467	9,3152	0,0170(?)	2,1042
29.	3³/₄	117883	2,447	2,143	7,6164	2,6949	10,3113	0,0482	0,5406	3,5428	2,5077	6,0505	0,0638	1,6351
7.	2	61697	1,598	1,429	—	—	11,105	0,0668	0,2879	—	—	9,620	0,0661	0,3217
10.	4	119158	2,590	2,266	10,4490	2,5449	12,9939	0,0120	0,2751	5,9360	3,1829	9,1189	0,0063	1,8604
12.	3¹/₂	75790	1,741	1,531	11,484	2,8958	14,3798	—	0,3408	3,5953	2,7890	6,3843	—	1,0400
31. VII.	4	142834	2,945	2,551	10,7214	3,7942	14,6156	0,0501	0,5631	4,9152	3,4950	8,4102	0,0554	1,6712
2. VIII.	4	139671	2,979	2,626	14,6263	2,9670	17,5933	0,0761	0,6474	6,2924	4,0560	10,3484	0,0591	1,6566
7.	4	140085	2,613	2,239	17,9528	4,2787	22,2315	0,0806	0,5821	8,8243	4,3552	13,1795	0,1044	2,0123

Der Mehrverlust während der Arbeit, verglichen mit einer gleichlangen Ruhezeit ist also 210,2 — 62 = 148,2 g.

Wie für den Kohlenstoff, wollen wir auch in diesem Falle den Gesamtverlust während der Versuchszeit ermitteln. Wir müssen daher zu dem während des Sitzens auf dem Rade erfolgten Verluste noch denjenigen hinzurechnen, der während der Ruhezeiten auf dem Stuhl erfolgte. In dem hier besprochenen Versuch am 31. VII. wurde die Arbeit durch drei Ruheperioden unterbrochen, die insgesamt 107 Minuten umfaßten. 0,18686 × 107 = 20 g. Die gesamte, in der ausgeatmeten Luft abgegebene Wassermenge betrug in diesem Versuch 210,2 + 20 = 230,2 g.

In ähnlicher Weise wurde der Wasserverlust in allen Versuchen berechnet.

Kennt man die in der Exspirationsluft ausgeschiedene Wassermenge, das Harngewicht, die Einnahme an fester und

flüssiger Nahrung und das Anfangs- und Endgewicht des Körpers, so läßt sich die von der Haut abgegebene Wassermenge leicht berechnen. Daß diese Wassermenge zum größeren Teil eigentlicher Schweiß, zum kleineren durch die Epidermis verdampftes Wasser ist, wurde in der vorstehenden Arbeit von Durig, Neuberg und Zuntz ausführlich auseinandergesetzt. Bei der großen Menge Schweiß in meinen Arbeitsversuchen ist die Korrektur für das durch die Epidermis verdampfte Wasser nur unbedeutend und wurde von mir vernachlässigt.

Zur bequemeren Übersicht geben wir in der nachstehenden Tabelle III eine Zusammenstellung der Versuche, die nach der Stickstoffausscheidung angeordnet ist. Die aus dieser allgemeinen Tabelle extrahierten Spezialtabellen erläutern die Verhältnisse in den einzelnen Stadien des Versuches.

Tabelle IV.

Harn in Ruhe und Arbeit.

Datum 1913	Art des Versuchs	Proz. der 24st. Periode	Menge des Harns ccm	Proz. der 24stünd. Menge	Spez. Gewicht	Reaktion	Farbe	Stickstoff-Menge g	Stickstoff-Menge %	Chlor-Menge g	Chlor-Menge %
7. VII.	Ruhe Arbeit	} —	1105								
10.	Ruhe	78,5	1080	76,0	—	—	—	10,4490	80,0	5,9360	65,0
	Arbeit	21,5	340	24,0	—	—	—	2,5449	20,0	3,1829	35,0
12.	Ruhe	80,7	600	68,6	1028	schwach sauer	dunkelrot	11,4840	80,0	3,5953	56,3
	Arbeit	19,3	275	31,4	1022	„ „	hellrot	2,8958	20,0	2,7890	43,7
17.	Ruhe	79,9	735	69,0	1028	sauer	dunkelrot	7,6955	74,7	5,9685	64,1
	Arbeit	20,1	330	31,0	1024	„	gelb	2,6037	25,3	3,3467	35,9
22. *	Ruhe	80,6	1130	79,6	1010	sauer	dunkelgelb	4,7799	77,6	4,7283	66,6
	Arbeit	19,4	290	20,4	1020	schwach sauer	hellgelb	1,3746	22,4	2,3751	33,4
24. *	Ruhe	79,0	320	54,7	1030	schwach sauer	dunkelrot	5,0544	72,0	2,0539	43,3
	Arbeit	21,0	265	45,3	1025	„ „	hellgelb	1,9517	28,0	2,6876	56,7
26. *	Ruhe	78,4	520	61,2	1023	sauer	dunkelgelb	4,9374	72,0	3,7063	53,7
	Arbeit	21,6	330	38,8	1018	schwach sauer	hellgelb	1,8810	28,0	3,1944	46,3
29.	Ruhe	79,0	515	66,5	1028	sauer	dunkelrot	7,6164	73,9	3,5428	58,6
	Arbeit	21,0	260	33,5	1025	„	hellgelb	2,6949	26,1	2,5077	41,4
31.	Ruhe	76,0	835	68,4	—	—	—	10,7214	73,4	4,9152	58,4
	Arbeit	24,0	385	31,6	—	—	—	3,7942	26,6	3,4950	41,6
[illegible] VIII.	Ruhe	78,3	1050	70,9	—	—	—	14,6263	83,1	6,2924	60,8
	Arbeit	21,7	430	29,1	—	—	—	2,9670	16,9	4,0560	39,2
7.	Ruhe	79,6	1280	74,2	1026	sauer	gelb	17,9528	80,8	8,8243	67,0
	Arbeit	20,4	445	25,8	1021	„	hellgelb	4,2787	19,2	4,3552	33,0

Zur Bestimmung der gesamten Stickstoff- und Chlorausscheidung des Körpers wurde der 24 stündige Harn gesammelt. Aus seinem N-Gehalt läßt sich derjenige der Nahrung annähernd abschätzen. Um genaue Angaben über die Schweißsekretion zu erlangen, mußte der Harn der Arbeitsperiode (Versuchsdauer) getrennt von dem der Ruheperioden (Rest der 24 Stunden) gesammelt und gewogen werden. Es ergaben sich interessante Unterschiede zwischem dem Arbeits- und Ruheharn. Beide waren stets frei von Eiweiß.

Aus Tabelle IV ersieht man:

1. Während der Arbeit wurde mehr Harn als in der Ruhe entleert. Das war immer der Fall, auch bei intensivem Schwitzen und ganz unabhängig von der Diät.

2. Das spezifische Gewicht des Arbeitsurins ist niedriger als dasjenige des Ruheurins (eine Ausnahme). Auch hier übt die Diät keinen Einfluß aus.

3. Der Arbeitsharn reagiert weniger stark sauer.

4. Der Arbeitsharn hat eine hellere Farbe.

5. Die Stickstoffausscheidung ist annähernd der Zeit proportional, ohne Rücksicht auf Arbeit oder Ruhe. Auch spielt die jeweilige Kostform hierbei keine Rolle. Die Analysen lehren jedoch, daß der Ruheharn immer (mit einer Ausnahme) einen größeren Prozentgehalt an N aufwies als der Arbeitsharn. Da aber mehr Urin in den Arbeitsperioden im Verhältnis zur Zeit entleert wurde, bleibt das Verhältnis des in der Zeiteinheit abgegebenen Stickstoffs dasselbe.

6. Auch das spezifische Gewicht des Ruheharns ist mit einer Ausnahme höher als das des Arbeitsharns.

7. Die Chlorausscheidung ist während der Arbeit ungeheuer vermehrt. In gleicher Zeit ist die eliminierte Cl-Menge sehr viel größer als während der Ruhe. In 21 $^0/_0$ der Zeit (Arbeitsperiode) wurden 40,6 $^0/_0$ des 24 stündigen Chlors ausgeschieden. In einigen Fällen betrug die Cl-Menge in fünf Arbeitsstunden die Hälfte der 24 stündigen Ausscheidung. Auch hier bleibt irgendein Effekt der Diät aus. Auf Grund der analytischen Bestimmungen ergibt sich, daß der Arbeitsharn trotz seines geringeren spezifischen Gewichts auch immer einen höheren Prozentgehalt an Chlor als der Ruheharn aufweist.

Tabelle V.

Verhältnis des Stickstoffs und Chlors im Schweiß zur Gesamtausscheidung.

Datum 1913	N Gesamtmenge in Harn und Schweiß g	N Im Schweiß absolut g	N Im Schweiß %	Cl Gesamtmenge in Harn und Schweiß g	Cl Im Schweiß absolut g	Cl Im Schweiß %
22. VII.	–	–	–	10,101	2,998	29,7
26.	7,226	0,407	5,6	8,465	1,564	18,5
24.	7,342	0,336	4,6	6,346	1,605	25,3
17.	10,618	0,319	3,0	11,419	2,104	18,4
29.	10,816	0,541	5,0	7,686	1,635	21,3
7.	11,393	0,288	2,5	9,945	0,325	3,3
10.	13,269	0,275	2,1	10,979	1,860	17,3
12.	14,721	0,341	2,3	7,424	1,040	14,0
31.	15,179	0,563	3,7	10,081	1,671	16,6
2. VIII.	18,241	0,647	3,5	12,005	1,657	13,8
7.	22,814	0,582	2,6	15,192	2,012	13,2

Die vorstehende Tabelle gibt die Prozentwerte des im Schweiß ausgeschiedenen Stickstoffs und Chlors, bezogen auf die Gesamtmengen dieser beiden Stoffe, die vom Körper abgegeben wurden (nur ihr Gehalt in den Faeces ist nicht mit einbezogen). Von dem Gesamtstickstoff erscheinen 2 bis 5,6% im Schweiß unter den in diesen Versuchen obwaltenden Bedingungen. Wie andere Beobachter schon hervorgehoben haben, ist diese Menge groß genug, um, wenn sie bei Stoffwechselversuchen nicht in Rechnung gestellt wird, die experimentellen Ergebnisse hinfällig zu machen. Aus meinen gefundenen Zahlen geht hervor, daß der im Schweiß ausgeschiedene Stickstoff prozentisch ansteigt, wenn der gesamte Proteinstoffwechsel an Größe abnimmt.

Der Anteil des im Schweiß eliminierten Chlors ist insofern höchst bemerkenswert, als er 13 bis 30% der Gesamtausscheidung des Körpers an diesem Stoff ausmacht. Der erste meiner Versuche (7. VII.), der nur 2 Stunden Arbeit umfaßte, beweist, daß die Dauer der Arbeit einen großen Einfluß auf diese Ausscheidung ausübt. Es ist nämlich in diesem Versuch nicht nur die absolute Menge des im Schweiß ausgeschiedenen Chlors sehr viel geringer, auch der Prozentgehalt des Schweißes an Chlor (vgl. Tabelle VI) liegt mit 0,02% dreimal niedriger als in irgendeinem der anderen Versuche. Es wäre wichtig,

durch besondere Untersuchungen festzustellen, ob der Chlorgehalt des Schweißes mit der Dauer der Arbeit wächst. Im Gehalt an Stickstoff zeigt dieser Versuch keine Abweichung von den übrigen. Verhältnismäßig wenig Veränderungen in der Chlorabgabe sehen wir bei den verschiedenen Kostformen eintreten, und zwar lauten die Zahlen bei eiweißarmer Kost 2,05 g, bei der Kost mit mittlerem Eiweißgehalt 1,65 g (mit Auschluß des Versuchs vom 22. VII.) bei eiweißreicher Nahrung 1,77 g. Bei letzterer ist eine Tendenz zu reichlicherer Chloridaufnahme mit der Nahrung bemerkbar, die Durchschnittswerte des gesamten ausgeschiedenen Chlors in den drei Perioden sind: 8,3, 9,5 und 12,4 g. Dadurch steigt die prozentische Cl-Ausscheidung im Schweiß bei den eiweißärmeren Kostformen, wie aus den folgenden Durchschnittszahlen ersichtlich: bei eiweißarmer Diät beträgt sie 24,5 %, bei der etwas eiweißreicheren (ohne den Versuch vom 22. VII.) 18 % und bei sehr eiweißreicher 14,5 %.

Die Ergebnisse meiner Versuche in bezug auf die Konzentration des Schweißes an den beiden von mir untersuchten Stoffen sind in Tabelle VI zusammengestellt.

Tabelle VI.

Prozentische Ausscheidung von N und Cl im Schweiß.

Datum	Schweiß	Stickstoff		Chlor	
		Menge	des Schweißes	Menge	des Schweißes
1913	kg	g	%	g	%
22. VII.	2,279			2,9977	0,13
26.	2,464	0,4074	0,017	1,5644	0,06
24.	2,169	0,3357	0,015	1,6048	0,07
17.	2,025	0,3192	0,016	2,1042	0,10
29.	2,143	0,5406	0,025	1,6351	0,08
7.	1,429	0,2879	0,020	0,3255	0,02
10.	2,266	0,2751	0,012	1,8604	0,08
12.	1,531	0,3408	0,022	1,0400	0,07
31.	2,551	0,5631	0,022	1,6712	0,07
2. VIII.	2,626	0,6474	0,025	1,6566	0,06
7.	2,239	0,5821	0,026	2,0128	0,09

Aus der obigen Tabelle geht hervor, daß die prozentische Zusammensetzung des Schweißes in bezug auf Stickstoff und Chlor durch veränderte Diät keine wesentliche Veränderung erleidet.

Meine Ergebnisse harmonieren in bezug auf die Konzentration des Schweißes nicht ganz mit manchen Angaben über die Zusammensetzung dieser Flüssigkeit, die sich auf direkte Analysen des vom Körper ablaufenden Schweißes stützen. So geben Mairet und Ardin Delteil[1]) an, daß der von ihnen in einem Metallkasten, aus dem nur der Kopf hervorragte, bei Applikation heißer Luft unter aseptischen Kautelen gesammelte Schweiß gesunder, kräftiger Männer folgende Zusammensetzung gehabt habe:

In den Monaten März und April: 3 bis 6 g NaCl pro Liter, in den Monaten Juli und August: 0,8 bis 4,2 g.

Rechnen wir das Chlornatrium auf Chlor um, so entsprechen die ersteren Zahlen pro Liter 1,92 bis 3,84 g Cl. Der höchste, nur einmal am 22. Juli von mir gefundene Wert betrug 1,3 g im Liter. Die Versuche der Autoren in den Sommermonaten stimmen wenigstens in ihren niedrigeren Ergebnissen gut mit diesem Versuch überein.

Noch höhere Kochsalzmengen finden Brieger und Disselhorst[2]). Sie finden im Mittel von 15 Versuchen an gesunden Menschen 7,1 $^0/_{00}$ NaCl, also noch das Maximum der französischen Forscher übertreffende Zahlen. Ich möchte glauben, daß die höheren Werte dieser Forscher daher kommen, daß der Schweiß durch Verdunstung mehr oder weniger eingedickt war.

Auch meine im Vergleich hierzu niedrigen Werte führen aber zu der Erkenntnis, daß unter Umständen eine bedenkliche Verarmung des Körpers an Chlor bei starkem Schwitzen, wie es besonders die Arbeit in heißem Klima begleitet, herbeigeführt werden kann. Ich möchte im Zusammenhang mit dieser Beobachtung auf den enormen Salzhunger der Neger hinweisen, der die Ethnologen vielfach interessiert hat, und für den Bunge eine sehr geistvolle, aber doch wohl etwas gesuchte Erklärung in der Natriumausspülung bei kalireicher Kost gegeben hat. Es liegt wohl näher, daran zu denken, daß die enormen Verluste an Chloralkalien in dem Schweiß den Kochsalzhunger bedingen. Wir verstehen angesichts dieser

[1]) Malys Jahrb. **1900**, 369.
[2]) Deutsche med. Wochenschr. **10**, 1903.

Tatsache auch, warum gerade der Mensch mit seiner großen Schweißsekretion solchen Salzhunger hat, während der Hund, der beim Hacheln nur wenig tropfbaren Speichel verliert, keinen Bedarf an Kochsalz hat. Das Pferd dagegen hat starken Salzbedarf, weil es stark schwitzt.

Die Herabsetzung oder das Schwinden des Chlors aus dem Harn in der Krise der Pneumonie beruht wohl auch zum Teil auf dem Schwitzen.

Bibliographie.

P. Argutinsky, Versuche über die Stickstoffausscheidung durch den Schweiß bei gesteigerter Schweißabsonderung. Arch. f. d. ges. Physiol. **46**, 594 bis 600, 1890; **96**, 594, 1896.

Brighenti, Zeitschr. f. allgem. Phys. **11**, 1, 1910.

W. Camerer, Über die chemische Zusammensetzung des Schweißes. Zeitschr. f. Biol. **41**, 271 bis 274, 1901.

Cramer, Arch. f. Hygiene **10**, 231, 1890.

Erich Harnack, Über die Zusammensetzung des menschlichen Schweißes und den relativen Salzgehalt der Körperflüssigkeiten. Fortschritte der Medizin **2**, Nr. 3, S. 91 bis 94, 1893.

Kittsteiner, Schweiß. Arch. f. Hygiene **1913**, 287.

G. Pugliese, La Composition de la sueur produite par la chaleur et par le travail étudiée chez le cheval. Arch. Italiennes de Biol. **58**, 298, 1912; diese Zeitschr. **33**, 16, 1911.

Schumburg und Zuntz, Phys. des Marsches S. 309 bis 333.

Zuntz, Loewy, Müller, Caspari, Höhenklima und Bergwanderungen. Berlin, Bong 1906, S. 377.

Biologischer Nachweis proteinogener Amine in Organextrakten und Körperflüssigkeiten.

Von

M. Guggenheim und **Wilh. Löffler.**

(Aus der medizinischen Klinik des Bürgerspitals und dem physiol.-chem. Laboratorium von Hoffmann-La Roche & Co., Basel.)

(Eingegangen am 16. Oktober 1915.)

Proteinogene Amine entstehen durch Decarboxylierung aus den Aminosäuren. Es bildet sich:

Methylamin CH_3NH_2 aus Glykokoll $NH_2.CH_2.COOH$;

Äthylamin $CH_3CH_2.NH_2$ aus Alanin $CH_3.CH(NH_2).COOH$;

Isoamylamin $\begin{matrix}CH_3\\CH_3\end{matrix}\rangle CH.CH_2.CH_2.NH_2$ aus

Leucin $\begin{matrix}CH_3\\CH_3\end{matrix}\rangle CH.CH_2.CH(NH_2).COOH$;

Tetramethylendiamin (Putrescin) $NH_2.CH_2.CH_2.CH_2.CH_2.NH_2$ aus

Ornithin $NH_2.CH_2.CH_2.CH_2.CH(NH_2)COOH$;

Phenyläthylamin $C_6H_5.CH_2.CH_2.NH_2$ aus

Phenylalanin $C_6H_5.CH_2.CH(NH_2)COOH$;

Oxyphenyläthylamin $HO.C_6H_4.CH_2CH_2NH_2$ aus

Tyrosin $HO.C_6H_4.CH_2.CH(NH_2)COOH$;

Dioxyphenyläthylamin HO, HO, $CH_2.CH_2.NH_2$ aus

Dioxyphenylalanin HO, HO, $CH_2.CH(NH_2)—COOH$;

β-Imidazolyläthylamin

CH
NH N
HC = C—$CH_2.CH_2.NH_2$ aus

Histidin

CH
HN N
HC = C.$CH_2CH(NH_2)COOH$;

Indoläthylamin

CH
CH C— C.$CH_2.CH_2.NH_2$ aus
CH C CH
CH NH

Tryptophan

CH
HC C——C.$CH_2CH(NH_2)COOH$
HC C CH
CH NH.

Diese Amine haben bis vor kurzem nur durch vereinzelte Forscher Beachtung gefunden. Speziell haben sich Ellinger[1]) und Ackermann[2]) auf diesem Arbeitsgebiet verdient gemacht,

[1]) Ellinger, A., Die Konstitution des Ornithins und des Lysins, zugleich ein Beitrag zur Chemie der Eiweißfäulnis. Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**, 334.

[2]) Ackermann, Ein Beitrag zur Chemie der Fäulnis. Zeitschr. f. physiol. Chem. **54**, 1. — Ein Fäulnisversuch mit Arginin. Ebenda **56**, 305. — Über eine neue Base mit gefaultem Pankreas. Ebenda **57**, 28. — Über den bakteriellen Abbau des Histidins. Ebenda **65**, 504. — Über ein neues, auf bakteriellem Wege gewinnbares Aporrhegma. Ebenda **69**, 273.

indem sie diese basischen Stoffe als Produkte bakterieller Einwirkung auf Aminosäuren erkannt haben. Durch die Arbeiten von Kutscher und Lohmann und Engeland[1]) sind diese Untersuchungen in mannigfacher Weise erweitert worden, namentlich durch Ausarbeitung von Isolierungs- und Trennungsverfahren der oft sehr komplizierten Basengemische. Die alten Arbeiten von Selmi, Gautier und Brieger[2]) über Ptomaine haben dadurch eine exakte Grundlage erhalten und sind einem systematischen Studium zugänglich geworden.

Ein erneutes Interesse erfuhr diese Körperklasse durch die chemische Bearbeitung des Mutterkorns. Es ergab sich, daß die hauptsächliche Wirkung dieser Droge nicht, wie man bisher angenommen hatte, auf der Gegenwart von Alkaloiden (Ergotoxin, Ergotinin usw.) beruht, sondern daß die charakteristischen pharmakologischen Eigenschaften vielmehr auf den Gehalt an bestimmten proteinogenen Aminen, p-Oxyphenyläthylämin, Phenyläthylamin, Isoamylamin und β-Imidazolyläthylamin zurückzuführen sind. Dadurch wurde ein eingehendes pharmakologisches Studium dieser Amine speziell von p-Oxyphenyläthylamin und β-Imidazolyläthylamin angeregt[3]). Es zeigte sich, daß die Wirksamkeit dieser Amine eine äußerst intensive ist, und daß sie der Qualität und Intensität nach den wirksamsten Alkaloiden kaum nachsteht. Können doch diese Amine ihrer chemischen Konstitution nach als die einfachsten Formen von

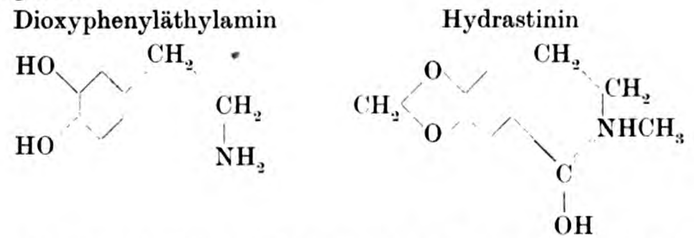
---

[1]) Kutscher und Lohmann, Der Nachweis toxischer Basen im Harn. 1. bis 4. Mitt. Zeitschr. f. physiol. Chem. **48**, 422, 1906; **49**, 81, 88; **51**, 457. — Achelis und Kutscher, Der Nachweis organischer Basen im Pferdeharn. Ebenda **52**, 91, 1906. — Ackermann und Kutscher, Über die Aporrhegmen. Ebenda **69**, 265, 1906. — R. Engeland und F. Kutscher, Über ein methyliertes Aporrhegma des Tierkörpers. Ebenda **69**, 282, 1906.

[2]) Selmi publiziert in der Gazz. chim. ital. von 1872 bis 1882. — Gautier und Etard, Bull. de la Soc. chim. **37**, 305, 1882. — Brieger, Die Ptomaine. 3 Teile. Verlag Aug. Hirschwald, Berlin, 1885 bis 1886.

[3]) Barger und Dale, Über Mutterkorn. Arch. f. experim. Pathol. und Pharmakol. **61**, 113. — Chemische Struktur und sympathomimetische Wirkung der Amine. Journ. of Physiol. **41**, 19, 1910; **40**, 38. — Dale und Laidlaw, Die physiologische Wirkung von β-Imidazolyläthylamin. Ebenda **41**, 318 bis 344. — Dale und Dixon, Die Wirkung der bei der Fäulnis gebildeten blutdrucksteigernden Amine. Ebenda **39**, 25, 1909. — Barger, Journ. chem. Soc. **95**, 1123, 1909.

Alkaloiden aufgefaßt werden. Das dem Dioxyphenylalanin entsprechende proteinogene Amin ist z. B. analog dem Hydrastinin aufgebaut



Die konstitutionelle Ähnlichkeit von β-Imidazolyläthylamin mit Pilocarpin ist aus untenstehender Formel ersichtlich.

β-Imidazolyläthylamin

$$\begin{array}{l} HC = C - CH_2 - CH_2 . NH_2 \\ \;|\qquad\;| \\ HN\quad N \\ \quad\diagdown\diagup \\ \quad\; H \end{array}$$

Pilocarpin

$$\begin{array}{l} HC = C - CH_2 - HC - CH - C_2H_5 . \\ \;|\qquad\;|\qquad\qquad\;\;|\qquad\;| \\ N\quad NCH_3 \qquad H_2C \quad CO \\ \quad\diagdown\diagup \qquad\qquad\quad \diagdown\diagup \\ \quad\; C \qquad\qquad\qquad\quad O \\ \quad\; H \end{array}$$

Die engen Beziehungen der proteinogenen Amine zu den Aminosäuren bieten von vielen Gesichtspunkten aus Interesse. Durch einen einfachen chemischen Vorgang, die Decarboxylierung, kann der Körper von den pharmakologisch inaktiven Aminosäuren zu hervorragend wirksamen Substanzen gelangen. Es erscheint naheliegend, daß der Organismus diese Reaktion nicht ungenutzt läßt. Beweise hierfür bietet unseres Erachtens die Kenntnis der inneren Sekretion, soweit sie bis heute auf eine chemische Basis gestellt ist. Das einzige bisher in seiner chemischen Konstitution erkannte Hormon, das Adrenalin, ist schließlich auch nichts anderes als ein proteinogenes Amin, dessen Muttersubstanz die noch unbekannte Aminosäure Dioxyphenyl-α-methylamino-β-oxypropionsäuse[1]) ist:

$$(HO)_2C_6H_3 - CHOH.CH.(NH.CH_3).COOH.$$

Auch die neuesten Forschungen über die Natur des wirk-

---

[1]) Guggenheim, Dioxyphenylalanin, eine neue Aminosäure aus Vicia faba. Zeitschr. f. physiol. Chem. 88, 276 bis 284.

samen Prinzips der Hypophyse weisen darauf hin, daß es sich um ein Eiweißspaltprodukt von Amincharakter handelt[1].

Auf das Vorkommen aminartiger Substanzen in Körperflüssigkeiten weist auch O'Connor[2] hin, der im normalen Blutserum eine Substanz nachgewiesen hat, die in ihrem pharmakologischen Verhalten an β-Imidazolyläthylamin erinnert. Wie dieser Autor darlegt, ist das Vorkommen dieser Substanzen in Erwägung zu ziehen bei allen Untersuchungen, die den Nachweis von Adrenalin und adrenalinähnlichen Substanzen im Serum zum Ziel hatten[3].

Von großem Interesse ist die Tatsache, daß es Barger und Dale[4] gelungen ist, β-Imidazolyläthylamin aus Darmschleimhaut zu isolieren. Bei den von Barger und Dale angewandten Isolierungsverfahren bleibt es zwar dahingestellt, ob β-Imidazolyläthylamin nicht ein bakterielles Produkt ist. Die Arbeiten von Berthelot und Bertrand[5], Mellanby und Tworth[6],

[1]) Guggenheim, Beitrag zur Kenntnis des wirksamen Prinzips der Hypophyse. Diese Zeitschr. **65**, 189, 1914. — Fühner, Pharmakologische Untersuchungen über die wirksamen Bestandteile der Hypophyse. Zeitschr. f. d. ges. experim. Med. **1**, 397,

[2]) O'Connor, Über Adrenalinbestimmung im Blut. Münch. med. Wochenschr. **1911**, 1439.

[3]) Fränkel, Über den Gehalt des Blutes an Adrenalin bei chronischer Nephritis und Morbus Basedowii. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **60**, 395, 1909. — Moog, Über den gegenseitigen Synergismus von normalem Serum und Adrenalin am Froschgefäß. Ebenda **77**, 346. — Bröking und Trendelenburg, Adrenalinnachweis und Adrenalingehalt des menschlichen Blutes. Deutsch. Arch. f. klin. Med. **103**, Heft 1 und 2. — Dubary, Über die klinische Untersuchung des Blutserums auf vasokonstringierende Substanzen. Centralbl. f. d. ges. inn. Med. **6**, 592. — Grube und Reifferscheid, Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Schwangerschaftstoxine. Med. Klin. **1912**, 569.

[4]) Barger und Dale, β-Imidazolyläthylamin bildet einen blutdrucksenkenden Bestandteil der Darmschleimhaut. Journ. of Physiol. **41**, 499.

[5]) Berthelot und Bertrand, Biologische Eigenschaften des Bacillus aminophilus intestinalis. Compt. rend. Soc. chim. **154**, Heft 26, 1912. — F. Hoffmann-La Roche & Co., Verfahren zur Darstellung von β-Imidazolyläthylamin aus Histidin. DRP. 256116, Kl. 12p.

[6]) Mellanby und Tworth, Über die Gegenwart von β-Imidazolyläthylamin in der Darmwand mit einer Isolierungsmethode des Bacillus aus dem Darmkanal zur Umwandlung von Histidin in diese Substanz. Journ. of Physiol. **45**, 53, 1912.

Sasaki[1]), Iwao Toku[2]) und Mutch[3]) haben nämlich dargelegt, daß in der Darmflora Bakterien vorkommen, die imstande sind, Histidin, Tyrosin und Tryptophan unter Bildung von β-Imidazolyläthylamin, p-Oxyphenyläthylamin und Indoläthylamin zu verändern. Eine solche Entstehungsmöglichkeit dieser leicht resorbierbaren giftigen Amine im Darmkanal wirft ein neues Licht auf die Genese der intestinalen Autointoxikation und läßt es nicht unmöglich erscheinen, daß dieser Körperklasse auch bei gewissen pathologischen Zuständen eine Rolle zukommt.

Es erschien uns daher von Interesse, in den Körperflüssigkeiten nach Verbindungen dieser Art zu suchen. Dabei war es uns vor allen Dingen daran gelegen, eine leicht handliche Methode zu finden, nach der es gelingt, kleine Mengen dieser pharmakologisch aktiven sekundären Abbau- und Zwischenprodukte des Eiweißstoffwechsels nachzuweisen.

Die von Kutscher und Ackermann (l. c.) ausgearbeiteten chemischen Methoden sind zu kompliziert und zu verlustreich für die gestellte Aufgabe. Biologische Methoden sind für ähnliche Zwecke schon wiederholt empfohlen worden. Wir erwähnen bloß die Froschgefäßmethode von Laewen-Trendelenburg[4]), sowie die Blutdruckmethode, die namentlich beim Adrenalin gute Dienste geleistet hat, die Methode am überlebenden Uterus, die von Barger und Dale[5]) sowie auch von Fränkel[6]) angewendet worden ist. Verschiedene andere Testobjekte — überlebende Blutgefäße vgl. Cow[7]), Kaninchen-Ohrgefäße vgl.

---

[1]) Sasaki Takaoki, Über die biochemische Umwandlung primärer Eiweißspaltprodukte durch Bakterien. Biochem. Centralbl. **58**, 429.

[2]) Iwao Toku, Beitrag zur Kenntnis der intestinalen Autointoxikation. Biochem. Centralbl. **59**, 436.

[3]) Mutch, Die Bildung von β-Imidazolyläthylamin im Ileum bei gewissen Obstipationen. Centralbl. f. d. ges. inn. Med. **11**, 621, 1914.

[4]) Laewen, Quantitative Untersuchungen über die Gefäßwirkung von Suprarenin. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **51**, 415. — Trendelenburg, Bestimmung des Adrenalingehaltes im normalen Blut usw. Ebenda **63**, 161.

[5]) Chemische Struktur sympathomimetischer Amine. Journ. of Physiol. **41**, 1910.

[6]) Vgl. l. c. Anm. 8.

[7]) Cow, Einige Reaktionen überlebender Arterien. Journ. of Physiol. **42**, 125.

Bissemski, Krawkow usw., überlebende Bronchialmuskulatur vgl. Trendelenburg[1]) — sind für Substanzen, die in diese Körperklasse gehören, ausgearbeitet worden.

Unter sämtlichen Methoden erschien uns aber keine so aussichtsreich wie die Methode von Magnus[2]) am überlebenden Darm. Diese ist einerseits nur wenig kostspielig und sehr einfach. Vor der Uterusmethode besitzt sie den Vorzug, daß von einem Darm eine große Anzahl von Kurven erhalten werden kann, während die Uterusmethode von einem Tier höchstens zwei einwandfreie Kurven liefert. Der Darm kann in seiner ganzen Länge vom Duodenum bis zum Cöcum verwendet werden und reagiert fast gleichmäßig. Er hält sich sehr lange aktionsfähig, wenn man ihn in der von Magnus angegebenen Weise aufbewahrt. Stücke von $1^1/_2$ bis 2 cm Länge genügen für einen Versuch. Da nach der unten beschriebenen Anordnung gleich drei Versuche auf einmal ausgeführt werden können, da die Auswechslung und Einschaltung frischer Darmstücke leicht möglich ist, erwies sich dieses Testobjekt als sehr empfehlenswert.

Vor allem erschien uns der überlebende Meerschweinchendarm für den gedachten Zweck geeignet. Dieses Testobjekt ist zwar viel weniger resistent als der gewöhnlich gebrauchte überlebende Kaninchendarm. Die von ihm geschriebenen Kurven sind viel unregelmäßiger und weniger ansehnlich als die Kaninchendarmkurven, dafür ist der Meerschweinchendarm sehr viel empfindlicher als der Kaninchendarm und reagiert auch viel gleichmäßiger als dieser.

Bei einiger Übung gelingt es, für ein und dieselbe Substanz stets das gleiche Resultat zu erhalten, so daß die Minimaldosis einer Substanz, die am überlebenden Darm noch wirksam ist, stets die gleiche bleibt oder höchstens sehr wenig differiert.

Im wesentlichen hielten wir uns bei unseren Versuchen an die von Magnus (l. c.) gegebenen Vorschriften. Die Apparatur war ähnlich wie die von Neukirch und Rona[3]).

---

[1]) Trendelenburg, Physiologische und pharmakologische Untersuchungen an der isolierten Bronchialmuskulatur. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **69**, 1912.

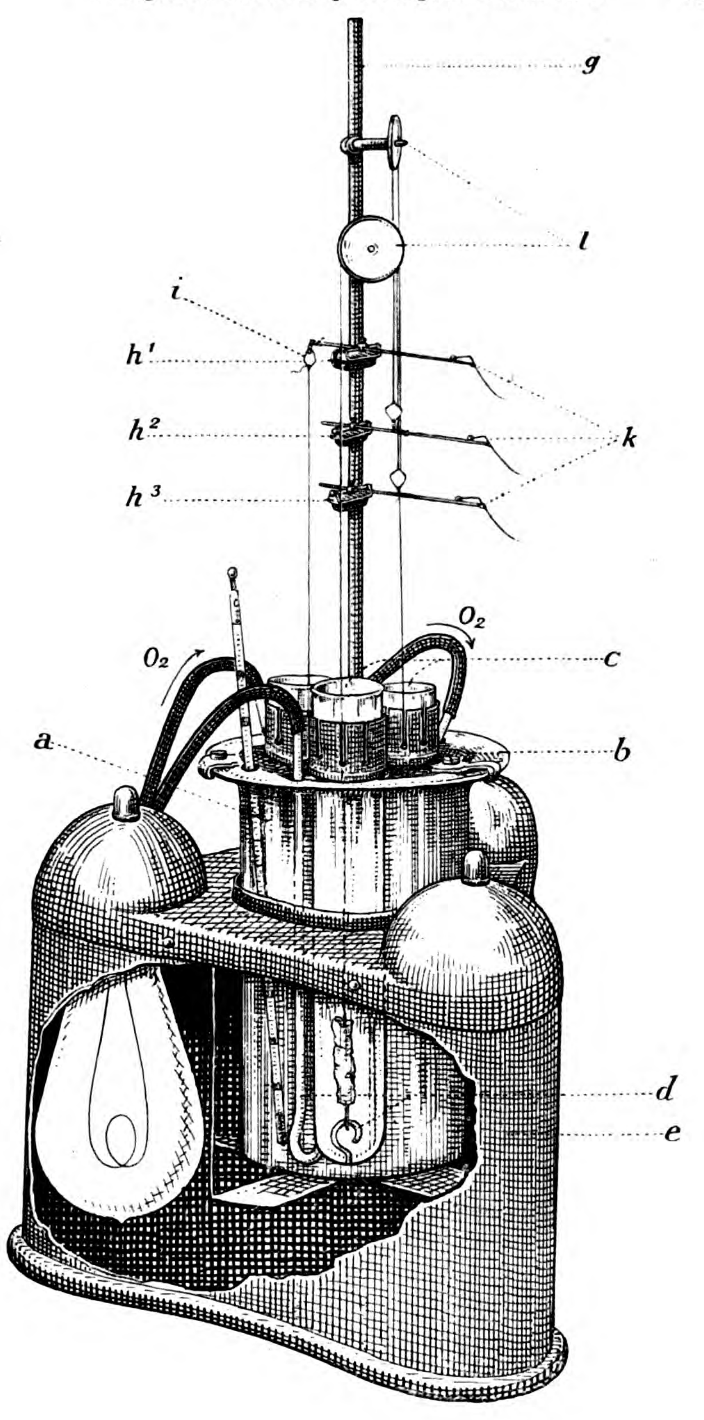
[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. **102**, 1904.

[3]) Neukirch, Arch. f. d. ges. Physiol. **144**, 555, 1912; vgl. auch **146**, 371, 1912. — Wieland, ebenda **147**, 171, 1912.

Einige Modifikationen seien an Hand nebenstehender Figur erläutert:

In ein ca. 1 Liter fassendes Becherglas (*a*) tauchen durch einen durchbohrten Metalldeckel (*b*) 3 Glasgefäße (*c*) von 100 ccm Inhalt, an deren Boden ein Glashäkchen zur Befestigung der Darmschlinge und ein Zuleitungsrohr (*d*) für den Sauerstoff angebracht sind. Um dem ganzen Apparat die nötige Stabilität zu sichern, ruht das Wasserbad in einem sich nach unten verbreiternden Gestell aus Kupferblech (*e*), in das 3 Glühbirnen (*f*) verschiedener Stärke eingeschraubt sind, mit denen die Temperatur leicht konstant auf 38^0 gehalten werden kann. Das Kupfergestell wird der starken Erwärmung wegen zweckmäßig mit einem Mantel aus Asbest umgeben. Das Stativ (*g*), das 3 sehr leicht um ihre Achsen drehbare Hebelchen trägt, wird praktisch an der das Wasserbad deckenden Metallplatte befestigt. Die eine der Darmschlingen wird direkt durch Seidenfaden mit einer kleinen federnden Drahtklemme (*i*) mit dem einen Hebel (h_1) verbunden, der Anschluß der beiden anderen h_2 und h_3 wird durch in Kugellagern sehr leicht spielende Rollen (*l*) vermittelt, so daß die Bewegungen aller 3 Därme in einer Ebene registriert werden können. Die Aufzeichnung erfolgt mittels Stirnschreiber (*k*). Diese Apparatur verbindet mit großer Stabilität bequeme Handhabung, da sie in dem kupfernen Stützgefäß leicht in toto gegenüber dem Kymographion verschoben werden und bei der Befestigung der Darmschlingen das Wasserbad in seinem Sockel leicht gedreht werden kann. Der Apparat wird von der Firma James Jaquet & Co. in Basel hergestellt.

Die Empfindlichkeit des Meerschweinchendarmes ist allerdings für verschiedene der proteinogenen Amine nicht sehr groß. Speziell die niedrigen Glieder der aliphatischen Reihe Methylamin, Äthylamin, Tetra- und Pentamethylendiamin haben keine ausgesprochene Wirkung. Doch war es für uns vorläufig wichtig, eine Methode zu besitzen, nach der es gelingt, die akut toxischen proteinogenen Amine und Aporrhegmen nachzuweisen. Diese besitzen nun glücklicherweise fast alle eine genügende Wirksamkeit, um mit der Methodik nachweisbar zu sein. Wir geben im folgenden die Minimalkonzentrationen an, bei denen eine Reihe von Substanzen noch deutlich wirksam sind, und


g
l
i
h'
h²
h³
k
O_2
O_2
c
a
b
d
e

fügen zur Illustration je zwei Kurven bei, wovon die eine eine deutliche Wirkung, die andere die minimale eben noch merkliche Wirkung zeigt.

Fig. 1 demonstriert die Wirksamkeit von β-Imidazolyläthylaminchlorhydrat in einer Verdünnung von 1 : 250 000 000 auf den Meerschweinchendarm.



Fig. 1.
Wirkung von 0,000 002 5 g β-Imidazolyläthylaminchlorhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

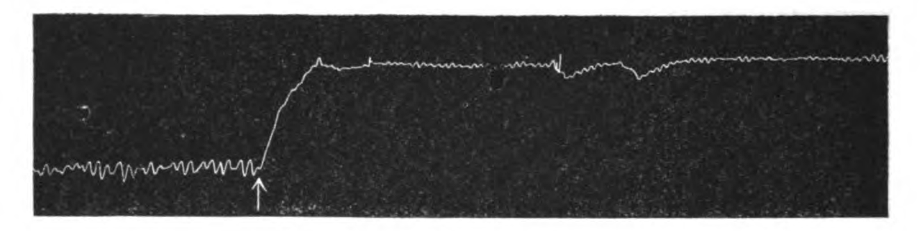


Fig. 2.
Wirkung von 0,000 05 g β-Imidazolyläthylaminchlorhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Fig. 2 zeigt die Wirkung von β-Imidazolyläthylaminchlorhydrat in einer Konzentration von 1 : 50 000 000. Da der Meerschweinchendarm in der von uns gehandhabten Apparatur in 100 ccm Ringer-Lösung suspendiert war, sind die absoluten Mengen von β-Imidazolyläthylaminchlorhydrat in obigen Versuchen 0,000 002 5 bzw. 0,000 05 g. Suspendiert man die Testobjekte in einer kleineren Flüssigkeitsmenge — es lassen sich leicht Gefäße konstruieren, die nur 20 ccm Ringer-Lösung enthalten und die ebenso handlich sind wie die größeren Gefäße —, so wird die Empfindlichkeit der Methodik noch größer und die nachweisbaren absoluten Mengen sind in dem erwähnten Fall fünfmal kleiner.

Vergleicht man die Ausschläge von Fig. 1 und 2 mit dem

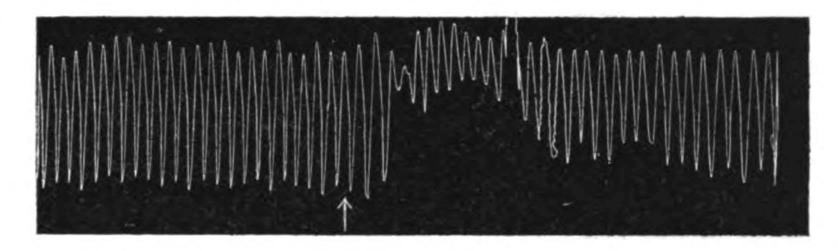


Fig. 3.
Wirkung von 0,001 g β-Imidazolyläthylaminchlorhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Kaninchendarm.

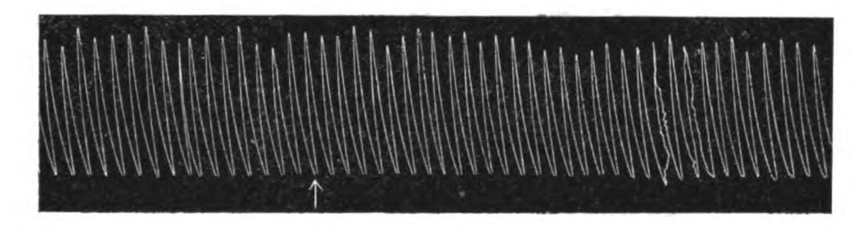


Fig. 4.
Wirkung von 0,0001 mg β-Imidazolyläthylaminchlorhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Kaninchendarm.

in Fig. 3 und 4 durch 0,001 bzw. 0,0001 g β-Imidazolyläthylamin erzielten Wirkungsbild am Kaninchendarm, so ist ohne weiteres die Überlegenheit des Meerschweinchendarmes gegenüber dem Kaninchendarm ersichtlich. Eine sichere Wirkung wird am Kaninchendarm nur mit 0,001 g β-Imidazolyläthylaminchlorhydrat erzielt, 0,0001 g sind oft, wenn auch nicht immer, unwirksam. Diese Überlegenheit gilt auch für die meisten anderen in Betracht kommenden Substanzen, mit Ausnahme des speziellen Falles von Adrenalin, hierüber vgl. weiter unten.

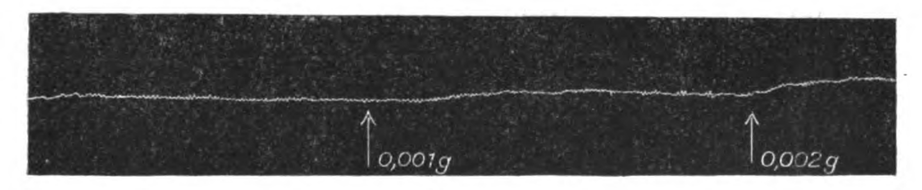


Fig. 5.
Wirkung von 0,001 und 0,002 mg p-Oxyphenyläthylaminchlorhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Allerdings muß gesagt werden, daß eine so weitgehende Empfindlichkeit nur für wenige Substanzen existiert; Oxyphenyläthylamin z. B. hat seine Grenzdosis in einer Konzentration von 1 : 100 000 (Fig. 5), deutlich nachweisbar 1 : 20 000 (Fig. 6). Dies entspricht bei Verwendung von 100 ccm Ringer-Lösung 1 mg bzw. 5 mg p-Oxyphenyläthylaminchlorhydrat.

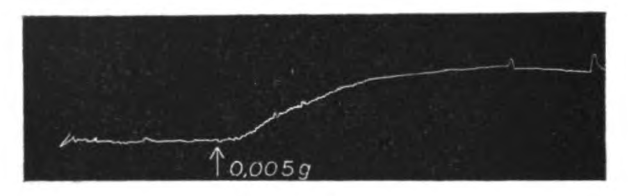


Fig. 6.
Wirkung von 0,005 g p-Oxyphenyläthylaminchlorhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

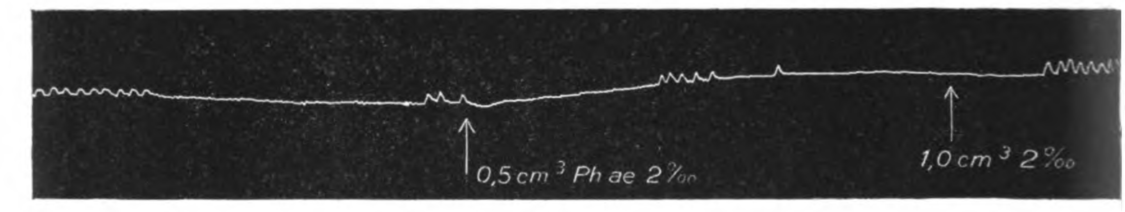


Fig. 7.
Wirkung von 0,001 bzw. 0,002 g Phenyläthylaminchlorhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

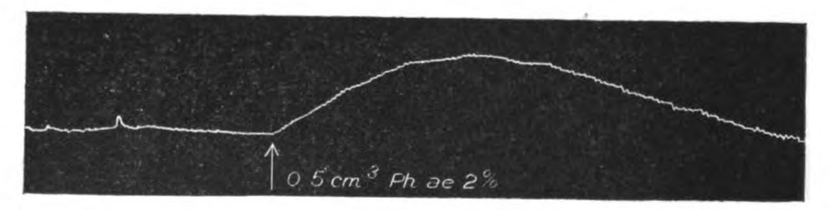


Fig. 8.
Wirkung von 0,01 g Phenyläthylaminchlorhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Ähnlich liegen die Grenzdosen von Phenyläthylamin und Isoamylamin. Für ersteres bei ca. 1 : 100 000, für letzteres bei 1 : 20 000 (Fig. 9).

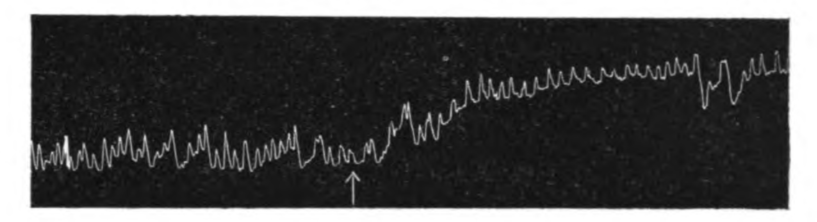


Fig. 9.
Wirkung von 0,005 g Isoamylaminchlorhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Indoläthylamin, das aus Tryptophan entstehende proteinogene Amin, besitzt eine ähnliche Minimaldosis, d. h. eine kaum merkliche Wirkung in der Konzentration von 1 : 100 000 (Fig. 10), eine deutliche Wirkung in der Konzentration von 1 : 10 000 (Fig. 11).



Fig. 10.
Wirkung von 0,001 g Indoläthylaminchlorhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

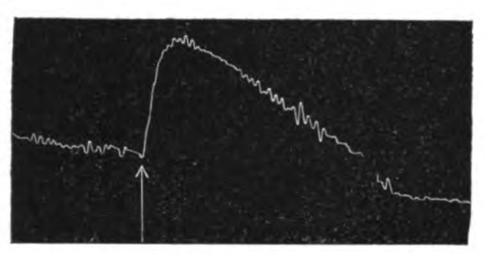


Fig. 11.
Wirkung von 0,004 g Indoläthylaminchlorhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Die Wirkung des Indoläthylamins auf den Darm zeigt sich in einer primären Steigerung, der fast unmittelbar eine völlige Erschlaffung des Darmes folgt. Der mit Indoläthylamin vorbehandelte Darm ist gegen eine nachherige weit über der Minimaldosis liegenden Dosis von β-Imidazolyläthylamin unempfindlich. Das Gift scheint also das Organ sehr stark geschädigt zu haben.

Eine ähnliche Wirkung wie das Indoläthylamin besitzt auch das Indol. Vgl. Kurven Fig. 12 und 13.

Indolaminopropionsäure — Tryptophan — jedoch ist wie alle anderen Aminosäuren ohne Wirkung.

Ganz wenig aktiv bis unwirksam erwie sensich Methylamin,

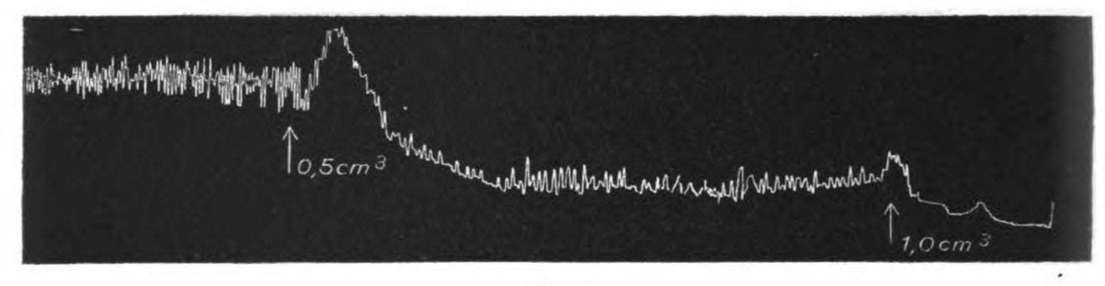


Fig. 12.
Wirkung von 0,5 ccm kalt gesättigter Indollösung auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

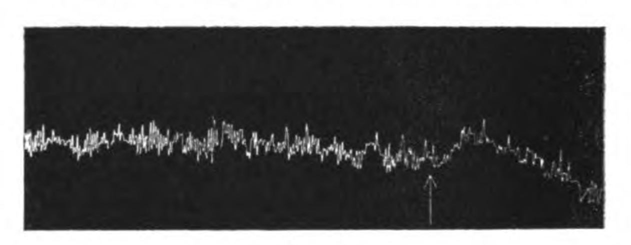


Fig. 13.
Wirkung von 0,1 ccm kalt gesättigter Indollösung auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Äthylamin, Cadaverin und Putrescin, ein Befund, der mit den von Barger und Dale (l. c.) am überlebenden Uterus und in Blutdruckversuchen gemachten Feststellungen übereinstimmt.



Fig. 14.
Wirkung von 0,01 g Tryptophan auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Außer der engeren Gruppe der proteinogenen Amine haben wir noch eine Reihe von Substanzen in Betracht gezogen, die ebenfalls als intermediäre Abbauprodukte des Eiweißes in Be-

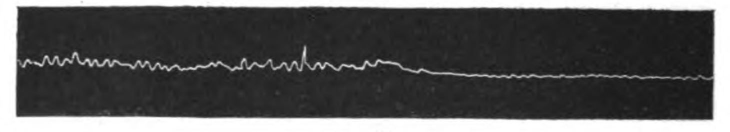


Fig. 15.
Wirkung von 0,000 001 g Suprareninhydrochlorid auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

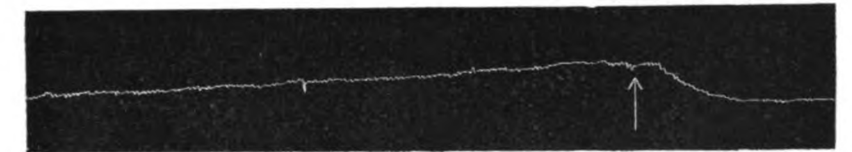


Fig. 16.
Wirkung von 0,00001 g Suprarenin-hydrochloricum auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

tracht zu ziehen sind, die zum Teil von Ackermann als Aporrhegmen bezeichnet worden sind, nämlich das Adrenalin, Guanidin, Methylguanidin, Cholin und Neurin. Das Cholin bzw. Neurin kommt in Betracht als Decarboxylierungsprodukt der Homo-Betaine:

$$(CH_3)_3 — N . CH_2 . CHOH — COOH$$
$$CH_2(OH) — CH [N(CH_3)_3] — COOH$$

sowie auch als Spaltprodukt des Lecithins.

Das Adrenalin ist am Meerschweinchendarm noch in einer sehr großen Verdünnung, ca. 1 : 50000000, durch eine vorübergehende Tonussenkung und Auslöschung der rhythmischen Bewegungen des Darmes nachweisbar.

Eine sichere Wirkung erfolgt stets bei einer Konzentration von 1 : 10000000 (Fig. 16).

Beim Adrenalin, aber auch nur bei diesem, ist die Verwendung des Kaninchendarmes als Testobjekt angezeigt. Die auslöschende bzw. senkende Wirkung kommt an den schönen gleichmäßigen Kurven des



Fig. 17.
Wirkung von 0,00005 g Suprareninhydrochloricum auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Kaninchendarm.

Kaninchendarmes ebenso sicher, jedoch viel schöner zum Ausdruck; vgl. Fig. 17.

Guanidin ist nur sehr wenig, wenn überhaupt, wirksam auf die glatte Muskulatur; vgl. Fig. 18.

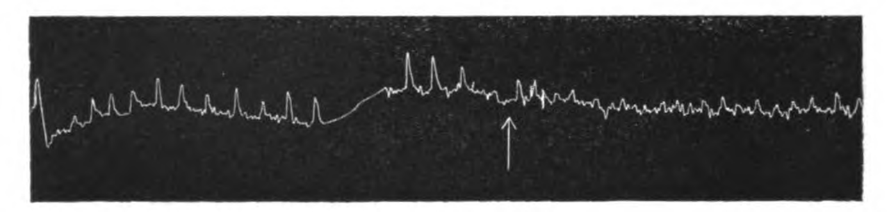


Fig. 18.
Wirkung von 0,1 g Guanidinchlorhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Hingegen bewirkt Methylguanidin noch in einer Verdünnung von 1 : 10000 eine deutliche Tonussteigerung bei gleichzeitiger Anregung der rhythmischen Bewegungen (Fig. 19).

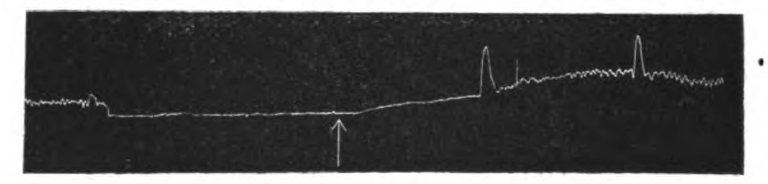


Fig. 19.
Wirkung von 0,01 g Methylguanidinnitrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Cholin ruft eine Tonussteigerung und eine Anregung der rhythmischen Bewegungen hervor, andeutungsweise in einer Konzentration von 1 : 100000 (Fig. 20), deutlich in einer Konzentration von 1 : 10000. Erheblich wirksamer als das Cholin ist das Acetylcholin. Dieses läßt sich noch in einer Konzentration von 1 : 100000000 deutlich nachweisen.

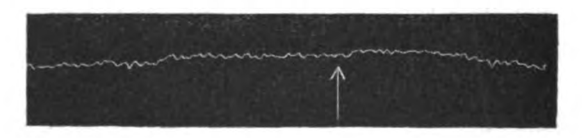


Fig. 20.
Wirkung von 0,001 g Cholinbromhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Da sich das Cholin durch Acylierung leicht in Acetylcholin überführen läßt, gedenken wir diesen Umstand zu benutzen, um eine einfache Methode zum Nachweis kleiner Cholinmengen auszuarbeiten.

Das aus dem Cholin durch Dehydratation entstehende Neurin besitzt eine analoge Wirkung wie das Cholin (Fig. 23 u. 24). Seine Wirksamkeit ist jedoch 10 mal so groß wie bei diesem.

Im vorstehenden ist gezeigt worden, daß die Darmmethodik zum Nachweis vieler proteinogenen Amine und verwandter Substanzen äußerst brauchbar ist. Am sichersten und am empfindlichsten ist der Nachweis von β - Imidazoläthylamin und von Adrenalin und für Cholin, wenn dieses zuvor in Acetylcholin übergeführt wird. Iso-

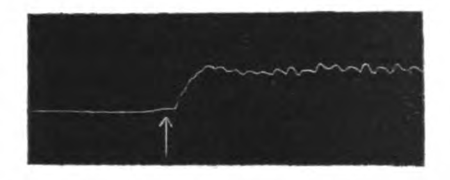


Fig. 21.
Wirkung von 0,010 g Cholinbromhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.



Fig. 22.
Wirkung von 0,000001 g Acetylcholin auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

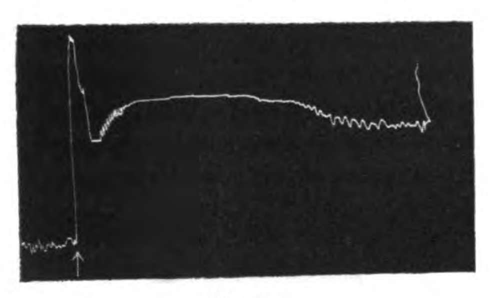


Fig. 23.
Wirkung von 0,001 g Neurinbromhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

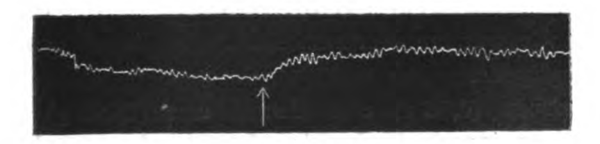


Fig. 24.
Wirkung von 0,0001 g Neurinbromhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

amylamin, Phenyläthylamin, Methylguanidin, Neurin, Oxyphenyläthylamin, Indoläthylamin müssen schon in größerer Quantität vorhanden sein, 1 cg bis 1 mg, ehe sie mit der Darmmethode nachgewiesen werden können. Wenn also diese Substanzen mit den zu untersuchenden Flüssigkeiten in zu großer Verdünnung vorhanden sind, 1 bis 5 ccm die nachweisbare Menge (1 mg bis 1 cg) nicht enthalten, so müssen diese Substanzen durch Eindampfen oder sonstige Vorbehandlung vor der Prüfung konzentriert werden.

Die Darmmethode wäre natürlich für den gedachten Zweck wertlos, wenn die in den Körperflüssigkeiten physiologischerweise enthaltenen Substanzen, Salze, Aminosäuren, Eiweißsubstanzen usw., auf das Testobjekt ebenfalls wirken würden. Wir haben nun die wichtigsten der in Betracht kommenden Substanzen in dieser Richtung geprüft und gefunden, daß sie fast alle unwirksam sind, selbst wenn man sie in einer Konzentration einwirken läßt, die weit über der physiologischen liegt. Unwirksam sind sämtliche Aminosäuren[1]) sowie Eiweißlösungen, Lecithin ist ebenfalls unwirksam.

Die Alkalisalze der niedrigen Fettsäuren und Harnstoff sind ebenfalls ohne ausgesprochene Wirkung. Der Harnstoff ruft in höherer Konzentration eine energischere Tätigkeit des Darmes hervor, ohne seinen Tonus zu verändern. Ölsäure, Palmitinsäure wirken senkend, aber erst in größeren Dosen (0,01 bis 0,1 g) ebenso gallensaure Alkalien.

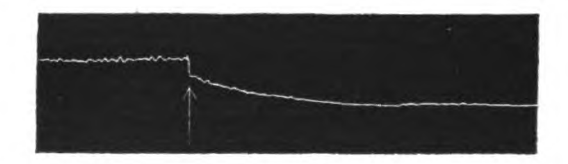


Fig. 25.

Glucose war am Meerschweinchen in Dosen von 0,1 bis 0,5 g wirkungslos.

Allantoin (0,03 g) und Harnsäure (0,005 g) erwiesen sich ebenfalls innerhalb der in Betracht kommenden Kon-

[1]) Vgl. hierzu analoge Befunde von Rona und Neukirch am Kaninchendarm, Arch. f. d. ges. Physiol. **146**, 373.

zentration als unwirksam. Hingegen hat Oxalsäure (oxalsaures Kalium) eine gewisse Wirkung, allerdings erst in großer Menge (1 : 5000 bis 1 : 2000; vgl. Fig. 26 u. 27).

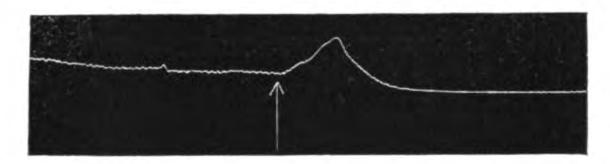


Fig. 26.
Wirkung von 0,02 g Kaliumoxalat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

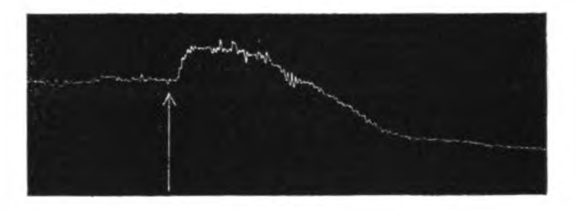


Fig. 27.
Wirkung von 0,05 g Kaliumcitrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Die Wirkung ist eine kurze Tonussteigerung und nachherige Erschlaffung. Sie beruht wahrscheinlich auf einem Entzug der in Ringer-Lösung enthaltenen Calciumionen, eine Vermutung, die sich durch das analoge Verhalten von citronensaurem Natrium bestätigen ließ. Oxalat- und Citratlösungen von so hoher Konzentration kommen jedoch bei der Prüfung von Körperflüssigkeiten wohl kaum in Betracht.

Ebenfalls wirksam erwies sich Natriumphosphat, und zwar in einer Konzentration von 1 : 5000 bis 1 : 10000 (vgl. Fig. 28 u. 29). Hier ist es die alkalische Reaktion des Salzes, welche

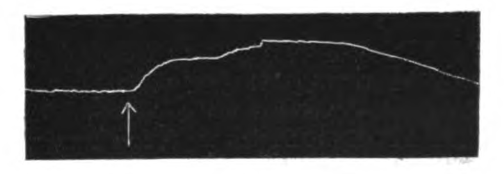


Fig. 28.
Wirkung von 0,01 g Na_2HPO_4 auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

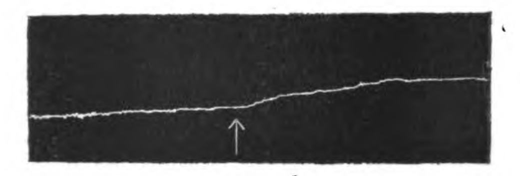


Fig. 29.
Wirkung von 0,01 g Na_2HPO_4 auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

die Tonussteigerung hervorruft. Neutralisiert man die Lösung mit Salzsäure, so bleibt die Wirkung aus.

Überhaupt muß es als Grundbedingung gelten, daß nur neutrale Flüssigkeiten, und zwar lackmusneutrale, geprüft werden. Gegen Alkali und Säuren ist der Darm ziemlich empfindlich, doch ist die Empfindlichkeit nicht so groß, daß sie für die Methode störend in Betracht käme. Geringe Mengen von Säuren oder Alkali werden ohne merkliche Reaktion des Darmstückes ertragen.

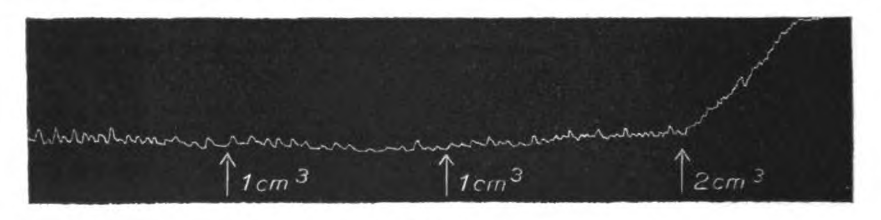


Fig. 30.
Wirkung von 1 ccm bzw. 2 ccm n-NaOH-Lösung auf den in 100 ccm Ringer-Lösung 10 suspendierten Meerschweinchendarm.

Wie aus obigen Kurven hervorgeht, zeigt sich erst bei höherer Konzentration von H- bzw. OH-Ionen eine Veränderung der Peristaltik. Säure — auch Kohlensäure[1]) — bewirkt eine Tonussenkung und Auslöschen der rhythmischen Bewegungen, Alkali eine Tonussteigerung.

Die Wirkung der Säure läßt sich durch nachherigen Zusatz von Alkali neutralisieren, ebenso die Alkaliwirkung durch nachherigen Säurezusatz. Das Darmstück funktioniert dann wie ein Indicator.

[1]) Vgl. auch Rona und Neukirch, Experimentelle Beiträge zur Physiologie des Darmes, II. Arch. f. d. ges. Physiol. **146**, 381.

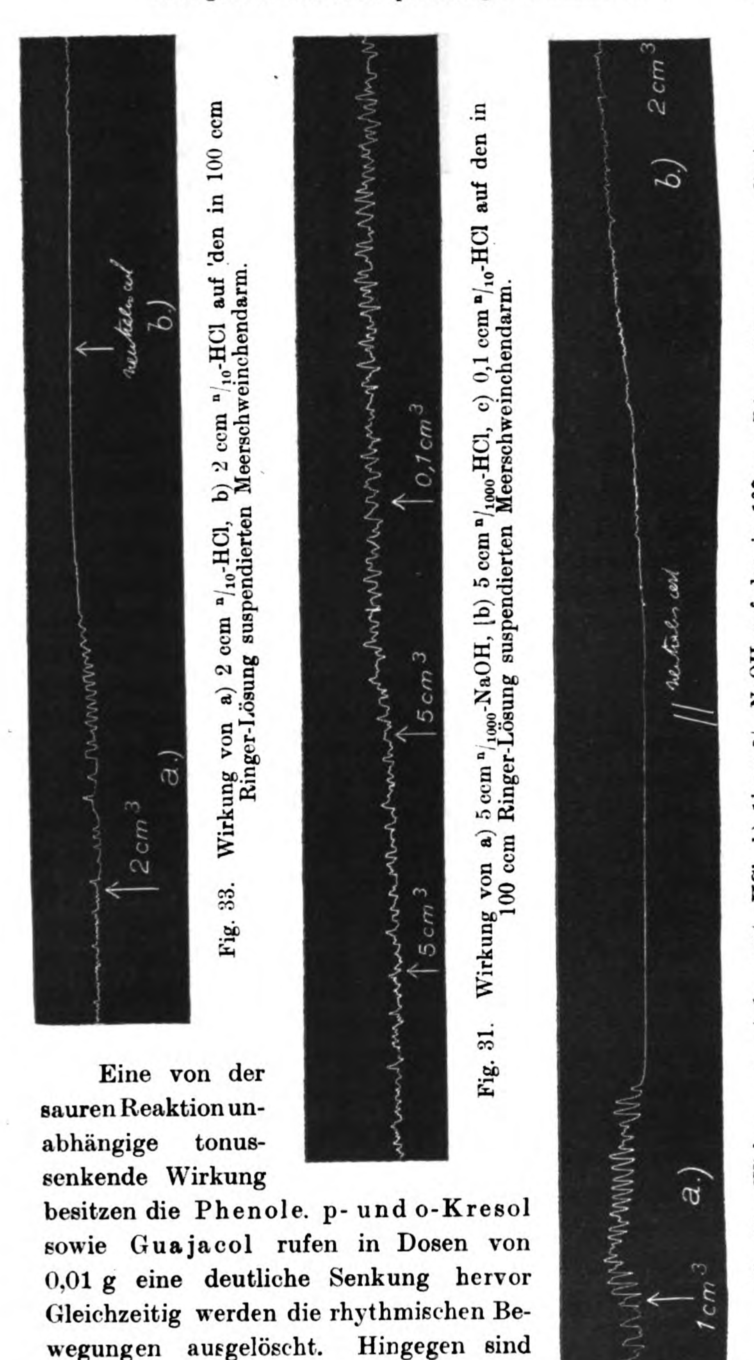


Fig. 33. Wirkung von a) 2 ccm $^{n}/_{10}$-HCl, b) 2 ccm $^{n}/_{10}$-HCl auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Fig. 31. Wirkung von a) 5 ccm $^{n}/_{1000}$-NaOH, b) 5 ccm $^{n}/_{1000}$-HCl, c) 0,1 ccm $^{n}/_{10}$-HCl auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Fig. 32. Wirkung von a) 1 ccm $^{n}/_{10}$-HCl, b) 1 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Eine von der sauren Reaktion unabhängige tonussenkende Wirkung besitzen die Phenole. p- und o-Kresol sowie Guajacol rufen in Dosen von 0,01 g eine deutliche Senkung hervor Gleichzeitig werden die rhythmischen Bewegungen ausgelöscht. Hingegen sind

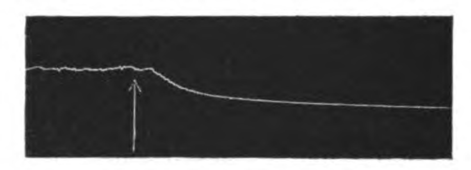


Fig. 34.
Wirkung von 0,01 g o-Kresol auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

die Alkalisalze von p-Oxyphenylessigsäure und Homogentisinsäure sowie Dioxyphenylalanin ohne Wirkung. Tyrosol (Oxyphenyläthylalkohol) besitzt eine geringe tonussteigernde Wirkung. Minimaldosis: 0,005 bis 0,010 g.

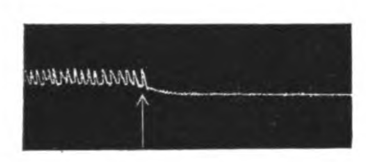


Fig. 35.
Wirkung von 0,01 g Guajacol auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Zusammenfassung.

Nach den vorstehend ausgeführten Untersuchungen erwiesen sich eine größere Anzahl proteinogener Amine und verwandte Substanzen am überlebenden Meerschweinchendarm wirksam. Bei Verwendung von 100 ccm Ringer-Lösung als Suspensionsflüssigkeit bestehen für die einzelnen Amine ungefähr folgende minimale wirksame Dosen: 0,000025 g für β-Imidazoläthylamin, 0,001 g für p-Oxyphenyläthylamin, 0,001 g für Phenyläthylaminchlorhydrat, 0,0050 g für Isoamylaminchlorhydrat, 0,002 g für Indoläthylaminchlorhydrat, 0,00001 g für Suprarenin hydrochloricum, 0,01 g für Methylguanidinnitrat, 0,01 g für Cholinbromhydrat, 0,000001 g für Acetylcholinbromhydrat, 0,001 g für Neurinbromhydrat. Wirksam waren ferner in Dosen von 0,1 bis 0,01 g: Alkalisalze der höheren Fettsäuren, gallensaure Alkalien, Oxalate, Citrate; in Dosen von 0,05 bis 0,01 g: Indol, Phenol, Kresol, Guajacol, Na_2HPO_4, Tyrosol.

Unwirksam erwiesen sich bis zu Dosen von 0,1 g auf 100 ccm Ringer-Lösung: Aliphatische Aminosäuren, Seidenpepton, Eiweißlösungen, Dioxyphenylalanin, Histidin, Tryptophan, p-Oxyphenylessigsäure, Homogentisinsäure, Methyl- und Äthylaminchlorhydrat, Trimethylaminchlorhydrat, Cadaverin, Putrescin, Guanidin, Alkalisalze der niedrigen Fettsäuren, Glucose, Lecithin.

Das Schicksal proteinogener Amine im Tierkörper.

Von

M. Guggenheim und **Wilh. Löffler.**

(Aus dem Laboratorium der med. Klinik und dem physiol.-chem. Laboratorium von Hoffmann-La Roche & Co., Basel.)

(Eingegangen am 16. Oktober 1915.)

Ehe das Vorkommen proteinogener Amine in den Körperflüssigkeiten näher untersucht werden konnte, waren vor allem folgende Fragen zu entscheiden: Was geschieht, wenn proteinogene Amine enteral oder parenteral in den tierischen Organismus gebracht werden? Sind sie intermediär oder als Ausscheidungsprodukte nachweisbar? Werden sie chemisch verändert, und welches sind die eventuellen Umwandlungsprodukte? Für einzelne der proteinogenen Amine waren diese Fragen schon zum Teil beantwortet. Das Schicksal von p-Oxyphenyläthylamin und einigen Derivaten desselben war von Ewins und Laidlaw[1]) eingehend studiert worden. Diese Autoren hatten zunächst festgestellt, daß bei oraler Verabreichung des p-Oxyphenyläthylamins ca. 25% als p-Oxyphenylessigsäure im Harn ausgeschieden werden. Die Umwandlung, die unter Desamidierung und ω-Oxydation vor sich geht, erfolgt nach ihrer Ansicht wahrscheinlich über das Tyrosol. Namentlich die Leber verändert das p-Oxyphenyläthylamin in diesem Sinne. Wenigstens konnten bei Perfusion der überlebenden Kaninchenleber bis 70% der theoretisch berechneten Säure isoliert werden. Quantitativ geringer ist die Umwandlung im überlebenden Uterus, während das nach Langendorff isolierte Herz das Amin weitgehend oxydiert

---

[1]) Ewins und Laidlaw, Das Schicksal von p-Oxyphenyläthylamin im Organismus. Journ. of Physiol. **41**, 78, 1910.

bis zu Produkten, welche die Millonsche Reaktion nicht mehr geben. Dieselben Autoren haben gelegentlich ihrer grundlegenden Untersuchung über die pharmakologischen Eigenschaften des β-Imidazolyläthylamins nachgewiesen, daß als Umwandlungsprodukt des β-Imidazolyläthylamins im Harn ein ungiftiges Imidazolderivat erscheint. Über die chemische Natur desselben sprechen sie sich nicht näher aus.

Eine andere gründliche Untersuchung liegt von Oehme[1]) vor. Dieser hat β-Imidazolyläthylamin an Kaninchen intravenös verabreicht. Er stellte dabei fest, daß das Amin bei langsamer Infusion einer verdünnten β-Imidazolyläthylaminlösung in Dosen vertragen wird, die erheblich über der akut letal wirkenden liegen. Er führte diese Tatsache auf eine rasche Entgiftung im tierischen Organismus zurück, eine Vermutung, die er durch die von ihm verwendete biologische Prüfung am überlebenden Uterus bestätigen konnte.

Wir haben die von Ewins und Laidlaw und von Oehme mit p-Oxyphenyläthylamin bzw. β-Imidazolyläthylamin ausgeführten Versuche wiederholt und auf andere Amine — Isoamylamin, Phenyläthylamin, Indoläthylamin — ausgedehnt.

Die Substanzen wurden in Form ihrer Chlorhydrate an Kaninchen und Hunde per os und intravenös verabreicht. Wir verfolgten das Schicksal der Amine durch Untersuchung von Serum und Harn der Versuchstiere, chemisch mit den für die betreffenden Subtanzen in Frage kommenden Isolierungsverfahren und biologisch mit der Darmmethode. Wertvolle Aufschlüsse über die Art des Abbaus ergaben Durchströmungsversuche an der überlebenden Kaninchen- und Hundeleber, da die chemische Verarbeitung der Durchströmungsflüssigkeit (Ringer-Lösung) gegenüber den komplizierten Körperflüssigkeiten erhebliche Vorzüge bot.

Als allgemeines Resultat dieser Versuche ergaben sich folgende Feststellungen: Die in den Körper eingeführten Amine werden bei allmählicher Zufuhr schnell und vollständig entgiftet. Das Entgiftungsvermögen des Organismus ist zeitlich beschränkt, d. h. pro Zeiteinheit

[1]) Oehme, Über die Wirkungsweise des Histamins. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 72, 76.

kann nur eine bestimmte Menge Amine unschädlich gemacht werden. Wird diese Dosis überschritten, so treten akute Vergiftungssymptome auf, die gewöhnlich zum Tode führen. Diese akut toxische Dosis ist für die einzelnen Amine verschieden. Sie ist am kleinsten bei β-Imidazolyläthylamin, größer bei Phenyläthylamin, p-Oxyphenyläthylamin, Indoläthylamin, am größten bei Isoamylamin. Erfolgt die Zufuhr genügend langsam, so kann die akut bzw. letal toxische Dosis beliebig weit überschritten werden, ohne daß das Tier irgendwelche Vergiftungssymptome erkennen läßt.

Die Entgiftung im Organismus erfolgt in zwei Phasen. Zuerst bildet sich aus dem Amin durch Desamidierung der entsprechende Alkohol. Dieser wird nachträglich — wahrscheinlich über den Aldehyd — in die entsprechende Säure verwandelt, die ihrerseits je nach ihrer Verbrennlichkeit im Organismus weiter verbrannt oder gepaart oder ausgeschieden wird. Die Reaktionsfolge läßt sich demnach durch folgendes Schema veranschaulichen:

$$\underset{\text{I.}}{R.CH_2NH_2} \longrightarrow \underset{\text{II.}}{R.CH_2OH} \longrightarrow \underset{\text{III.}}{R.CHO} \longrightarrow \underset{\text{IV.}}{R.COOH}$$

Während im Harn nur Stufe IV isoliert werden konnte, gelang es uns, durch Verarbeitung der Leberperfusionsflüssigkeit neben IV in einzelnen Fällen noch geringe Mengen der bereits von Ewins und Laidlaw (l. c.) vermuteten Zwischenstufe II zu isolieren und zu identifizieren[1]).

Obiger Reaktionsverlauf wurde bis jetzt für 4 Amine — p-Oxyphenyläthylamin, Phenyläthylamin, Isoamylamin, Indoläthylamin — bewiesen. Es ist hierdurch wahrscheinlich geworden, daß es sich um ein allgemeines Verhalten der pro-

---

[1]) Nimmt man in Analogie zu dem von Suto (diese Zeitschr. **71**, 169 beobachteten Verhalten der proteinogenen Amine bei der Oxydation mit H_2O_2 in Gegenwart von $FeSO_4$ als erstes Reaktionsprodukt den Aldehyd (Stufe III) an, so wäre obiges Schema in folgender Weise abzuändern:

$$R.CH\begin{matrix} \diagup H \\ \diagdown NH_2 \end{matrix} :::::::::: \begin{matrix} HO \\ O \\ H \end{matrix} \longrightarrow R.CH{:}O \begin{matrix} \nearrow R.COOH \\ \searrow R.CH_2OH, \end{matrix}$$

sei es, daß der primär entstandene Aldehyd nach der Canizzaroschen Reaktion umgewandelt wird, sei es, daß er einem in der Leber verlaufenden Reduktionsprozeß unterliegt.

teinogenen Amine handelt. Die Fähigkeit des Tierkörpers, die Amine in dieser Weise zu verändern, ist von erheblichem Interesse, denn sie zeigt eine neue allgemeine Reaktion, die von stickstoffhaltigen zu stickstofffreien Produkten führt und die aliphatischen und fettaromatischen Aminosäuren in aliphatische und fettaromatische Carbonsäuren verwandelt.

Noch unaufgeklärt blieb bis jetzt das Verhalten von β-Imidazoläthylamin. Während es bei langsamer intravenöser Injektion auch in relativ großen Dosen vollständig als ungiftiges Imidazolderivat im Harn ausgeschieden wird und auch intermediär im Serum mit der Darmmethode nicht nachweisbar ist, wird es bei Perfusion der überlebenden Leber nur zum kleinen Teil entgiftet: dieser Anteil konnte neben unverändertem β-Imidazolyläthylamin isoliert, aber noch nicht identifiziert werden.

Wenn die proteinogenen Amine, wie wir vermuten, im intermediären Stoffwechsel eine Rolle spielen, so ist es nach vorstehenden Ausführungen notwendig, vor allem nach den Umwandlungsprodukten derselben zu suchen. Speziell die Endprodukte, die im Harn ausgeschiedenen Carbonsäuren, können einen wertvollen Hinweis auf vorgebildete Amine bieten. Die Amine dürften nur in ausnahmsweisen pathologischen Fällen auftreten, bei denen das Entgiftungsvermögen des Körpers übermäßig in Anspruch genommen wird. Dies dürfte nur im Zeitpunkt akuter Intoxikationserscheinungen irgendwelcher Art erfolgen (Tetanieanfall, Asthmaanfall, akute Exantheme, Urticaria usw.). Bei der Untersuchung von Harn und Serum von Patienten mit verschiedenen chronischen Krankheiten konnten wir bis jetzt keine gegenüber der Norm erhöhte Toxizität der Körperflüssigkeiten feststellen.

I. p-Oxypphenyläthylamin.

Wie Ewins und Laidlaw isolierten wir aus dem Harn nach oraler Verabreichung von p-Oxyphenyläthylamin an Hunde ca. 40% p-Oxyphenylessigsäure. Ein Versuch am Kaninchen ergab, daß auch nach intravenöser Zufuhr p-Oxyphenylessigsäure entsteht. Wir beabsichtigten, das Amin intermediär mittels der Darmmethode im Serum nachzuweisen. Dies miß-

lang, obgleich relativ große Mengen p-Oxyphenyläthylamin infundiert wurden. Das während und nach der Infusion geprüfte Serum zeigte stets am Darm dieselbe Wirksamkeit wie Normalserum.

Normales Kaninchenserum besitzt nämlich eine ausgesprochene tonussteigernde Wirkung auf den Meerschweinchendünndarm.



Fig. 1.
Wirkung von 0,1 ccm lackmusneutralem Kaninchenserum auf den Meerschweinchendarm.

Auch andere Blutarten (Mensch, Hammel, Meerschweinchen, Rind) zeigen eine analoge, wenn auch erheblich schwächere tonussteigernde Wirkung auf den Meerschweinchendarm. Die Wirkung ist unabhängig von der geringen alkalischen Reaktion des Serums, da sie auch noch auftritt, wenn das Serum durch ein paar Tropfen verdünnter HCl gegenüber Lackmus neutralisiert wird. Sie ist offenbar an die Existenz einer aminartigen Substanz gebunden, die bereits von O'Connor[1]) bei seinen Untersuchungen mit der Gefäßmethode nach Laewen-Trendelenburg im Serum vermutet wurde.

Über die chemische Natur der wirksamen Serumsubstanz vermögen wir noch nichts Näheres zu sagen. Doch konnte bisher festgestellt werden, daß das wirksame Prinzip beim Fällen des Serums mit Alkohol in diesen übergeht. Wird der so erhaltene alkoholisch-wäßrige Extrakt zur Trockne gedampft, mit absolutem Alkohol aufgenommen, abermals eingedampft und der Rückstand in Wasser gelöst, so läßt sich in der schließlich erhaltenen Lösung die wirksame Substanz in nahezu unverminderter Aktivität nachweisen.

Die Gegenwart einer so wirksamen Substanz im Kaninchenserum ließ es aussichtslos erscheinen, auch nach Zufuhr relativ großer Mengen p-Oxyphenyläthylamin einen nennenswerten Unterschied in der Wirksamkeit festzustellen. Würde nach intravenöser Zufuhr von 1 g p-Oxyphenyläthylamin dieses unverändert im Blute kreisen, so enthält bei Annahme einer Gesamtblutmenge von 200 ccm 1 ccm Blut kaum etwas mehr

[1]) O'Connor, Über Adrenalinbestimmung im Blut. Münch. med. Wochenschr. **1911**, 1439.

als die wirksame Minimaldosis (0,002 g, während bereits 0,1 ccm Serum noch eine ausgesprochene tonussteigernde Wirkung ausübt. Da das β-Imidazolyläthylamin infolge seiner vielfach größeren Wirksamkeit viel geeigneter erschien, um das Verhalten proteinogener Amine im Blut aufzuklären, haben wir die gestellten Fragen bei diesem entschieden.

Um eventuell unverändert ausgeschiedenes p-Oxyphenyläthylamin im Harn nachzuweisen, wurde der gesamte 24 Stunden nach der Infusion gelassene Harn bei schwach saurer Reaktion zur Trockne gedampft, mit Alkohol in der Wärme extrahiert und der Rückstand des Alkoholextraktes am Darme geprüft. Er erwies sich stets als wirkungslos.

Die von Ewins und Laidlaw ausgeführten Perfusionsversuche ergänzten wir durch Isolierung von Tyrosol, p-Oxyphenyläthylalkohol

$$\overset{OH}{\bigcirc}\atop{CH_2 \cdot CH_2OH,}$$

das in der Perfusionsflüssigkeit in allerdings geringer Menge neben Oxyphenylessigsäure enthalten ist. Tyrosol, das wir nach Ehrlich[1]) aus Tyrosin durch Einwirkung von Hefe gewonnen hatten, wird in der überlebenden Kaninchenleber zur entsprechenden Säure oxydiert. Die Bildung von Tyrosol, die bis jetzt nur bei niederen Organismen beobachtet worden ist, erfolgt demnach auch im Organismus höherer Tiere.

Fütterungsversuch mit p-Oxyphenylamin am Hund.

Versuch 1.

6. VII. $12^h 30'$ mittags: 0,5 g p-Oxyphenyläthylamin einem mittelgroßen Hund; $3^h 30'$ 0,5 g, $6^h 30'$ 0,5 g p-Oxyphenyläthylamin.

7. VII. $11^h 30'$ vormittags 1,0 g.

Vom 7. auf den 8. VII. kein Urin entleert; Urin vom 6. VII. bis 10. VII. vereinigt = 1650 ccm.

---

[1]) Ehrlich, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **44**, 139, 1911. — Ehrlich und Jacobsen, Über die Umwandlung von Aminosäuren zu Oxysäuren durch Schimmelpilze. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **44**, 888, 1911. — Ehrlich und Pistschimuka, Überführung von Aminen in Alkohole durch Hefe und Schimmelpilze. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **45**, 1006.

Die Hälfte des Harns = 825 ccm mit 200 ccm 20⁰/₀iger Bleiacetatlösung gefällt, 200 ccm 10⁰/₀ige Essigsäure zugesetzt und die saure Fällung abfiltriert. Niederschlag = Pb-Niederschlag sauer. Das saure Filtrat wurde mit Ammoniak deutlich alkalisch gemacht. Es entsteht ein flockiger Niederschlag, der sich auf Zusatz von weiteren 200 ccm Bleiacetat vermehrte. Der Niederschlag wurde abgesaugt, gewaschen und mit Schwefelsäure zersetzt, vom Bleisulfat filtriert und die schwefelsaure Lösung ausgeäthert, zuletzt wurde die Ausätherung durch Zusatz von Kochsalz beschleunigt. Der Äther wird getrocknet, abdestilliert und 0,42 g einer krystallinischen, bräunlich-gelben Masse isoliert, die starke Millon-Reaktion gab.

Aus der sodaalkalischen Lösung dieses Rückstandes ließ sich mit Äther eine geringe Menge einer Millon-Reaktion gebenden Substanz extrahieren.

Die mit Äther erschöpfte sodaalkalische Lösung wurde mit Salzsäure kongosauer gemacht und ausgeäthert. Der Äther hinterließ schwach gelblich gefärbte Krystalle. Schmelzpunkt bei 139 bis 140° nach vorherigem Sintern bei 133°. Aus Benzol umkrystallisiert schmolz das Produkt bei **142°**, Beginn des Sinterns bei 137°. (Schmelzpunkt der p-Oxyphenylessigsäure 148°.)

Die saure Bleifällung sowie das Filtrat der alkalischen Bleifällung gaben nach dem Entfernen des Bleis mit Schwefelwasserstoff und nach Konzentration nur geringe Millonsche Reaktion. Die Hauptmenge der bei der Löslichkeit des p-Oxyphenyläthylamins entstandenen Oxyphenylessigsäure scheint also in ammoniakalischer Lösung mit Bleiacetat auszufallen.

Die andere Hälfte des Harns = 850 ccm wurde ohne weitere Vorbehandlung bei saurer Reaktion ausgeäthert und analog verarbeitet wie es bei Ewins und Laidlaw angegeben ist. Es resultierten 0,375 g eines gelblichen, mit Krystallen durchsetzten Sirups, der auf Tonteller abgepreßt ca. 0,1 g eines bei 146 bis 147° schmelzenden Produktes lieferte.

Infusion von p-Oxyphenyläthylamin am Kaninchen.

Versuch 2.

Kaninchen 2200 g. Infusion von p-Oxyphenyläthylamin durch die Ohrvene, 1⁰/₀ige Lösung. Blutentnahme aus der Jugularis.

I. Infusion 4^h bis $4^h 40'$, 0,1 g p-Oxyphenyläthylamin in 60 ccm Ringer-Lösung.

1. Blutprobe entnommen: $4^h 40'$.

II. Infusion $4^h 40'$ bis 5^h, 0,1 g p-Oxyphenyläthylamin in 60 ccm Ringer-Lösung.

2. Blutprobe: $5^h 05'$.

III. Infusion $5^h 05'$ bis $5^h 20'$, 0,15 g p-Oxyphenyläthylamin in 40 ccm Ringer-Lösung.

3. Blutprobe: $5^h 20'$.
4. Blutprobe: $5^h 45'$.

Die 4 Blutproben wurden nach der spontanen Gerinnung zentrifugiert und das Serum am überlebenden Darm geprüft. Die Wirkuug war nicht stärker als die eines Serums, das einer vor dem Versuch entnommenen Blutprobe entstammt.

Es erschien nun möglich, daß die geringen im Serum nicht nachweisbaren Mengen von p-Oxyphenyläthylamin, die der Oxydation eventuell entgangen sind, im Harn ausgeschieden werden. Nachdem wir uns überzeugt hatten, daß Mengen von 0,01 g p-Oxyphenyläthylamin nach Zusatz von 100 ccm Harn nach geeigneter Vorbehandlung mit der Darmmethode nachweisbar sind, haben wir den nach der Infusion ausgeschiedenen Harn in gleicher Weise verarbeitet und geprüft.

Der 24 Stunden nach der Infusion ausgeschiedene Harn (135 ccm) wurde bei schwach saurer Reaktion bis zur Trockne gedampft, der Rückstand mit Alkohol erschöpft und abermals zur Trockne gedampft, sodann in wenig Wasser aufgenommen und filtriert, die wäßrige Lösung neutralisiert und auf $^1/_4$ des ursprünglichen Harnvolumens, gleich 35 ccm, gebracht. Diese Lösung bewirkte am Darm Tonussenkung.

Dies spricht auf jeden Fall nicht für das Vorhandensein von p-Oxyphenyläthylamin, das eine Tonussteigerung hätte verursachen müssen. Worauf die geringfügige Tonussenkung zurückzuführen ist, wurde nicht ermittelt.

Durchblutung mit p-Oxyphenyläthylamin.

Versuch 3.

Kaninchen 3600 g, Leber 138 g. Durchströmung mit 2 l Ringer-Lösung. Während des Versuches bleibt die Lösung neutral. Dauer des Versuches $2^1/_2$ Stunden, Abfluß 350 ccm pro Minute. Nach Beendigung des Versuches wurden Apparat und Leber mit verdünnter Ringer-Lösung nachgespült und die gesamte Flüssigkeit mit soviel Essigsäure versetzt, daß die Lösung $^1/_{100}$ n war. Hierauf wurde aufgekocht, filtriert und das Filtrat im Vakuum auf ein kleines Volumen eingedampft. Die konzentrierte Lösung wurde deutlich sodaalkalisch gemacht und ausgeäthert. Der Ätherextrakt hinterließ eine geringe Menge krystallisierter, Millon-Reaktion gebender Substanz. Schmelzpunkt 87°. Reines, aus Tyrosin dargestelltes Tyrosol schmilzt bei 92,5°.

Die mit Äther erschöpfte sodaalkalische Lösung wurde mit HCl angesäuert und abermals ausgeäthert. Die saure Ausätherung ergab 0,522 g p-Oxyphenylessigsäure vom Schmelzpunkt 147°. Eine Wiederholung des Versuches gab ein analoges Resultat.

Durchströmungsversuch mit Tyrosol.

Versuch 4.

Kaninchen 2000 g. 0,738 g Tyrosol, 1,5 l Ringer-Lösung. Dauer 3 Stunden. Flüssigkeit am Ende des Versuches gegen Lackmus neutra

Essigsäure zugesetzt, bis die Lösung $^1/_{100}$ n war, aufgekocht, filtriert, Filtrat im Vakuum auf ein kleines Volumen eingeengt und bei saurer Reaktion mit Äther ausgeschüttelt, der Äther abgedunstet. Der Rückstand wog 0,470 g. Schmelzpunkt unscharf bei 100°. Reaktion lackmussauer, schwach kongosauer.

Um die Substanz von unverändertem Tyrosol zu reinigen, wurde sie in Wasser gelöst, sodaalkalisch gemacht und ausgeäthert. Aus der ätherischen Lösung wurden 0,145 g unverändertes Tyrosol (F. 89 bis 90°) isoliert.

Die mit Äther erschöpfte sodaalkalische Mutterlauge wurde mit Salzsäure kongosauer gemacht und ausgeäthert. Der Rückstand der ätherischen Lösung betrug 0,1 g p-Oxyphenyläthylessigsäure, vom Schmelzpunkt 147,5°.

II. Phenyläthylamin.

Phenyläthylamin wurde als Fäulnisprodukt des Leims von Nencki[1]) und von Spiro[2]) nachgewiesen. Winterstein und Bisegger[3]) vermuten diese Base im reifen Emmentaler Käse. Bei der vergleichenden physiologischen Prüfung der sympathomimetischen Amine fanden Barger und Dale[4]) Phenyläthylamin in etwa $^1/_3$ bis $^1/_5$ so wirksam wie p-Oxyphenyläthylamin. In unseren Versuchen interessierte uns vorläufig nur das chemische Verhalten der Base im Tierkörper. Dieses scheint im wesentlichen analog dem des p-Oxyphenyläthylamins zu sein. In der Leber wird das Phenyläthylamin demnach in weitgehendem Maße zu Phenylessigsäure oxydiert.

Phenyläthylalkohol konnten wir nicht mit Sicherheit als Zwischenprodukt nachweisen, jedoch gelang es uns, bei der Durchblutung mit Phenyläthylalkohol Phenylessigsäure in guter Ausbeute zu erhalten.

Im Harn wird ein Teil der verfütterten Base wahrscheinlich als Phenylessigsäure oder Phenylacetursäure[5]) ausgeschieden.

---

[1]) Nencki, Zur Fäulnis der Gelatine. Monatsh. f. Chem. **10**, 524, 1889.

[2]) Spiro, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. d. Stoffwechsels, **1**, 349. Die aromatische Gruppe des Leims.

[3]) Winterstein und Bisegger, Zur Kenntnis der Bestandteile des Emmentaler Käse. Zeitschr. f. physiol. Chem. **47**, 28.

[4]) Barger und Dale, Chemische Struktur u. sympathomimetische Wirkung der Amine. Journ. of Phys. **41**, 19.

[5]) E. und H. Salkowski, Über das Verhalten der aus dem Eiweiß durch Fäulnis entstehenden aromatischen Säuren im Tierkörper. Zeitschr.

Auf eine genaue Bestimmung verzichteten wir vorläufig, da wir noch über keine exakte Methode zur Trennung von Benzoesäure, Phenylacetursäure, Phenylessigsäure und Hippursäure verfügen. Unverändertes Phenyläthylamin konnte im Harn nicht nachgewiesen werden, auch nicht nach Verfütterung von relativ großen Mengen (bis 3 g) des Chlorhydrates.

Fütterungsversuch von Phenyläthylamin am Kaninchen.

Versuch 1.

6. IX. Kaninchen ca. 2 kg, bei Grünfutter.

7. IX. Mittags 2^h: 1 g Phenyläthylaminchlorhydrat per Sonde.

8. XI. Morgens 8^h: 180 ccm Harn, hell.

Mit 16 ccm konz. H_2SO_4 versetzt, 2 Stunden am Rückflußkühler gekocht und 2 Stunden mit Wasserdampf destilliert und wie oben behandelt. Die zweistündige Wasserdampfdestillation bezweckte die Abtrennung der Hauptmenge der Benzoesäure von der Phenylessigsäure, die bedeutend weniger flüchtig ist und daher mit wenig Benzoesäure verunreinigt im Destillationsrückstand verbleibt. Das Wasserdampfdestillat enthielt 0,13 g Benzoesäure. Schmelzpunkt 112°. Der Destillationsrückstand 0,7 g allmählich erstarrender Sirup. Die auf Tonteller abgepreßte Krystallmasse schmolz bei ca. 65° (Schmelzpunkt der reinen Phenylessigsäure bei 76,5°).

Versuch 2.

31. VIII. Kaninchen 2305 g, Grünfütterung.

Abends 5^h 30′: 1 g Phenyläthylaminchlorhydrat per Sonde.

2. IX. Morgens 8^h: 120 ccm Harn mit 20 ccm 2 n-NaOH versetzt und mit Äther erschöpft. Der mit entwässertem Na_2SO_4 getrocknete Äther hinterließ keinen alkalisch reagierenden Rückstand.

In einem Kontrollversuch wurden 100 ccm Harn mit 0,1 g Phenyläthylaminchlorhydrat versetzt und analog verarbeitet. Der Äther hinterließ eine Base mit typischem Amingeruch, die in wenig Wasser gelöst und mit gesättigter wäßriger Pikrinsäure versetzt ein Pikrat vom Schmelzpunkt 169 bis 170° lieferte (Schmelzpunkt von reinem Phenyläthylaminpikrat 171 bis 174°).

Abends 5^h: 150 ccm Harn.

3. IX. Morgens 8^h: 160 ccm Harn.

Abends 5^h: 2 g Phenyläthylaminchlorhydrat per os.

4. IX. Morgens 8^h: 225 ccm Harn.

---

f. physiol. Chem. 7, 161. — Salkowski, Zur Kenntnis der Eiweißfäulnis. III. Über die Bildung der nicht hydroxylierten aromatischen Säuren. Zeitschr. f. physiol. Chem. 9, 491; 10, 150.

Harn wie am 2. IX. behandelt. Mit Äther keine Base extrahierbar. Mittags 12h: 3,3 g Phenyläthylaminchlorhydrat per os. Das Tier zeigte bald nach der Eingabe heftige Krämpfe, die im Laufe des Nachmittags zum Exitus führen.

Aus Versuch 1 und 2 folgt vor allem, daß auch relativ große Dosen oral verabreichtes Phenyläthylamin oxydiert werden und daß kein unverändertes Amin in den Harn gelangt.

Perfusion von Phenyläthylamin.

Versuch 3.

Kaninchen 1950 g. Dauer 4 Stunden. 2 Liter Ringer-Lösung. Zusatz von 1 g Phenyläthylaminchlorhydrat. Abstrom 250 bis 300 ccm pro Minute. Im Verlauf der Durchblutung reagiert die Flüssigkeit allmählich schwach sauer. Die saure Reaktion wurde durch Zusatz von einigen Kubikzentimetern verdünnter $NaHCO_3$-Lösung behoben. Die enteiweißte und eingeengte Perfusionsflüssigkeit wurde bei sodaalkalischer Reaktion ausgeäthert; der Äther hinterließ einen spärlichen, sirupösen Rückstand von eigentümlich aromatischem Geruch. Die sodaalkalische, wäßrige Mutterlauge wurde nach dem Ansäuern mit Äther extrahiert. Der Äther hinterließ 0,507 g schwach gelblich gefärbte, blättrige Krystalle, die nach dem Umkrystallisieren aus heißem Wasser bei 76° schmelzen (Schmelzpunkt der Phenylessigsäure 76,5°).

Versuch 4.

Perfusion von Phenyläthylalkohol.

Kaninchen 2500 g. Dauer der Perfusion 3 Stunden.

2 Liter Ringer-Lösung. Zusatz von 1,1 g Phenyläthylalkohol. Abstrom 400 bis 500 ccm pro Minute. Die im Verlauf der Durchströmung allmählich auftretende schwach saure Reaktion der Flüssigkeit wird durch Zusatz von Natriumbicarbonicumlösung behoben.

Die enteiweißte, eingeengte Perfusionsflüssigkeit wurde bei sodaalkalischer Reaktion ausgeäthert. Die sodaalkalische, wäßrige Mutterlauge wurde mit HCl kongosauer gemacht und ausgeäthert. Der Äther hinterließ beim Verdunsten 0,60 g schwach gelblich gefärbte, blättrige Krystalle. Schmelzpunkt nach dem Umkrystallisieren aus heißem Wasser 76°.

III. Isoamylamin.

Es war von Interesse, neben den fettaromatischen Aminen ein Amin der aliphatischen Reihe auf sein biochemisches Verhalten zu untersuchen. Das Isoamylamin, von verschiedenen Autoren: Barger und Walpole, Rosenheim[1]) als Fäulnis-

[1]) Barger und Walpole, Journ. of Physiol. **38**, 343. — Rosenheim, ebenda **38**, 357.

produkt isoliert, ist neuerdings von Bain[1]) als eine der blutdrucksteigernden Substanzen des normalen Harnes angesprochen worden. Von Ehrlich und Pistschimuka[2]) wurde nachgewiesen, daß Hefe und Schimmelpilze Isoamylamin in Amylalkohol umwandeln.

Die von uns am Kaninchen ausgeführten Versuche zeigen, daß die Entgiftung der Base in gleicher Weise erfolgt wie bei den anderen Aminen. Bei der Leberperfusion wurde Isovaleriansäure erhalten. Daß die Oxydation des Amins zu Valeriansäure über den Isoamylalkohol erfolgt, wird wahrscheinlich durch eine Perfusion der Kaninchenleber mit Gärungsamylalkohol, bei der Valeriansäure entstand.

In Fütterungsversuchen, in denen bis zu 5 g Isoamylaminchlorhydrat gegeben wurden, ließ sich im Harn keine Isovaleriansäure nachweisen. Da auch kein freies Isoamylamin vorhanden ist, kann geschlossen werden, daß oral verabreichtes Isoamylamin vollständig verbrannt wird.

Die Feststellung, daß auch nach intravenöser Infusion einer verhältnismäßig großen Dose Isoamylamin im Harn weder unveränderte Base noch Valeriansäure nachweisbar waren, läßt den Befund von Bain sehr auffallend erscheinen. Wir halten es für möglich, daß es sich hier um eine sekundäre Bildung handelt, zumal wir wiederholt beobachten konnten, daß Harn, der im frischen Zustand keine Amine enthielt, schon nach einigen Stunden einen mit der Darmmethode sehr deutlich nachweisbaren Amingehalt aufwies, der auf Bakterienwirkung zurückzuführen war. Dieselbe Mutmaßung hat auch Schulz[3]) gegenüber der von Frerichs[4]) bei Typhus, Variola und akuter Leberatrophie gefundenen Valeriansäure geäußert.

Fütterungsversuch mit Isoamylamin am Kaninchen.
Versuch 1.

3. IX. Kaninchen 2000 g, per os 2 g Isoamylamin.

Der 24 Stunden nach der Eingabe der Base gelassene Harn wurde

---

[1]) Bain, Die Pressorbasen des Normalharnes. Centralbl. f. Biochem. u. Biophysiol. **1914**, 496.

[2]) l. c. S. 330 Anm. 1.

[3]) Schulz, Neubauer, Huppert, Analyse des Harns. Kreidels Verlag, Wiesbaden 1910, S. 198.

[4]) Frerichs, Wiener med. Wochenschr. **1854**.

zuerst mit NaOH deutlich alkalisch gemacht und ausgeäthert. Im Ätherrückstand war keine alkalisch reagierende Substanz nachweisbar. Der ausgeätherte alkalische Harn wurde mit verdünnter H_2SO_4 kongosauer gemacht und mit Wasserdampf destilliert. Das Destillat reagierte ganz schwach sauer, war jedoch frei von Isovaleriansäure, die sich durch ihren charakteristischen Geruch schon in kleinen Mengen bemerkbar macht.

Dasselbe Kaninchen erhielt am 5. IX. 4,5 g Isoamylaminchlorhydrat. In dem in gleicher Weise verarbeiteten Harn ließ sich ebenfalls weder das Amin noch die entsprechende Säure nachweisen.

Infusion von Isoamylaminchlorhydrat.

Versuch 2.

Kaninchen 2560 g, 1,5 g Isoamylaminchlorhydrat, gelöst in 150 ccm Ringer-Lösung, werden im Verlauf von $5^1/_2$ Stunden durch die Ohrvene infundiert. Während des Versuches werden 100 ccm Harn ausgeschieden, nach dem Versuch weitere 100. Das Tier stirbt in der folgenden Nacht.

Die vereinigten Harne wurden nach Zusatz von 20 ccm 2 n-NaOH ausgeäthert. Der Ätherextrakt hinterließ keine Base.

Zur Kontrolle wurden 100 ccm Harn mit 0,1 g Isoamylaminchlorhydrat versetzt, alkalisch gemacht und ausgeäthert. Der Ätherrückstand reagierte stark alkalisch, besaß den charakteristischen Fischgeruch des Isoamylamins und lieferte mit alkoholischer Oxalsäure ein schwerlösliches Oxalat.

Der alkalisch ausgeätherte Harn wurde mit H_2SO_4 angesäuert und mit Wasserdampf destilliert. Im Wasserdampfdestillat war keine Valeriansäure nachweisbar.

Aus diesen beiden Versuchen, namentlich aus Versuch 2 ergibt sich, daß Isoamylamin im Organismus rasch und vollständig umgewandelt wird. Aus dem Umstand, daß im Harn keine Valeriansäure nachweisbar ist, folgt, daß ein weitgehender oxydativer Abbau des Amins stattfindet.

Perfusion mit Isoamylaminchlorhydrat.

Versuch 3.

Kaninchen 3700 g. Perfusion 2000 ccm Ringer-Lösung. Abfluß 300 ccm pro Min. Dauer $2^1/_4$ Stunden. Im Verlauf der Durchblutung sehr starker Geruch nach Valeriansäure. Die enteiweißte Flüssigkeit wurde im Vakuum bei sodaalkalischer Reaktion eingedampft, mit Salzsäure angesäuert und ausgeäthert. Die hinterbliebene gelbliche Flüssigkeit wurde im Fraktionskolben destilliert. Der zwischen 130 und 160° siedende Anteil wurde gesondert aufgefangen. Farbloses, nach Valeriansäure riechendes Öl. In Wasser löslich, daraus durch Calciumchlorid wieder aussalzbar. Nach diesem Verhalten kann es sich nur um Valeriansäure handeln.

Perfusion der Kaninchenleber mit Amylalkohol.

Versuch 4.

Kaninchen 4750 g. 2500 ccm Ringer-Lösung. Abstrom 250 bis 300 ccm pro Minute. Zusatz von 5 g Amylalkohol (Ph. Helv.), gelöst in 250 ccm Ringer-Lösung in kleinen Portionen. Dauer 4 Stunden. Während der Perfusion trat deutlich erkennbarer Geruch nach Valeriansäure auf. Durch Zugabe von verdünnter $NaHCO_3$-Lösung wurde die Reaktion der Perfusionsflüssigkeit schwach lackmusalkalisch erhalten.

Die Perfusionsflüssigkeit, die noch deutlich nach Amylalkohol roch, wurde mit verdünnter HCl schwach angesäuert, enteiweißt und bei sodaalkalischer Reaktion auf ein kleines Volumen eingedampft. In der konzentrierten Lösung war kein Amylalkohol mehr wahrnehmbar. Die mit H_2SO_4 kongosauer gemachte Flüssigkeit wurde ausgeäthert, der getrocknete Äther hinterläßt 3,5 ccm einer gelblichen Flüssigkeit. Diese wurde im Ölbad destilliert. Die zwischen 170 bis 180° siedende Fraktion 0,610 g wurde gesondert aufgefangen, die Hauptmenge derselben ging bei 176° über.

0,610 g in ca. 100 ccm Wasser gelöst, verbrauchten zur Neutralisation 5,95 ccm n-NaOH, berechnet für $C_5H_{10}O_2$: 5,97 ccm. Es lag also zweifellos Isovaleriansäure vor.

Einwirkung von Leberbrei auf Isoamylalkohol.

Da sich Valeriansäure durch den charakteristischen Geruch schon in sehr geringen Mengen bemerkbar macht, war der Amylalkohol eine geeignete Substanz, um festzustellen, ob das Oxydationsvermögen der Leber — zum mindesten für Alkohole — auch noch im Leberbrei zum Ausdruck kommt, oder ob es an das intakte Organ gebunden ist. Ewins und Laidlaw hatten bei der Digestion von p-Oxyphenyläthylamin mit Leberbrei ein negatives Resultat erhalten.

Versuch 5.

50 g fein zerkleinerte Meerschweinchenleber wurde mit 1 g Amylalkohol unter fortwährendem Durchleiten eines schwachen Sauerstoffatomes 6 Stunden bei 37° gehalten. Auf Zusatz von Toluol oder Chloroform wurde verzichtet, da eine Hemmung der Oxydation durch diese Mittel nicht ausgeschlossen war und der zugesetzte Amylalkohol eine Gewähr für Ausschluß von Bakterienwirkung bot.

Die Digestionsflüssigkeit wurde angesäuert und mit Wasserdampf destilliert. Mit dem Wasserdampf ging unveränderter Amylalkohol über. Valeriansäure konnte nicht nachgewiesen werden.

IV. Indoläthylamin.

Von jeher hat das Auftreten von Indolderivaten in Fäulnisgemischen die Aufmerksamkeit der physiologischen Chemiker auf sich gelenkt. Seit der Entdeckung des Tryptophans durch Hopkins und Cole[1]) und dessen Konstitutionsaufklärung durch Ellinger[2]) sind diese Körper, das Indol, Skatol, Indolcarbonsäure, Indolessigsäure, Indolpropionsäure, sämtlich mit dem Schicksal dieser Aminosäure in Verbindung gebracht worden. Weitere Abbaustufen ergaben sich in neuester Zeit durch die Arbeiten von Laidlaw[3]) und Berthelot und Bertrand[4]), die aus Tryptophan durch bakteriellen Abbau Indoläthylamin gewannen, während Ehrlich[5]) durch Einwirkung von Hefe neben Indolessigsäure Indoläthylalkohol (Tryptophol) erhielt.

Es gelang uns nun nachzuweisen, daß das Indoläthylamin im tierischen Organismus die gleichen Abbauprodukte liefert wie das Tryptophan bei der Zersetzung durch Mikroorganismen. Bei der Perfusion der Kaninchenleber wird es nämlich wie die anderen bisher untersuchten Amine desamidiert und oxydiert. Es gelang uns, beide Reaktionsprodukte sowohl den Indoläthylalkohol wie auch die Indolessigsäure zu isolieren und somit einen neuen Beweis für die qualitative Gleichartigkeit des Verlaufs chemischer Reaktionen bei niederen und höheren Organismen zu liefern. Auch bei Verfütterung von Indoläthylamin wird dieses zu Indolessigsäure oxydiert.

Fütterungsversuch mit Indoläthylamin.

Versuch 1.

Ca. 2 kg schweres Kaninchen erhielt 0,9 g Indoläthylaminchlorhydrat (Tryptamin) per os. Der innerhalb der nächsten 24 Stunden ausgeschiedene Harn, 240 ccm, gab die für Indolessigsäure charakteristischen Reaktionen: Violettfärbung mit verdünnter Eisenchloridlösung

---

1) Hopkins und Cole, Journ. of Physiol. 27, 418, 1902.

2) Ellinger, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **35**, 2517.

3) Laidlaw, Die physiol. Wirkung von Indoläthylamin. Biochem. Journ. **6**, 150, 1911.

4) Berthelot und Bertrand, Compt. rend. **154**, 1643, 1826, 1912.

5) Ehrlich, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **45**, 883.

und Bildung eines roten Farbstoffes mit $KNO_2 + HNO_3$. Zur Isolierung wurde der Harn mit Oxalsäure angesäuert und ca. 6 Stunden mit Wasserdampf destilliert. Die nach der Destillation verbliebene wäßrige Lösung wurde ausgeäthert. Der Äther hinterließ einen braunen, in Wasser ziemlich schwer löslichen Sirup, der ebenfalls die Indolessigsäurereaktionen gab. Zur Reinigung wurde der Sirup in Soda gelöst und ausgeäthert. Der Äther hinterließ einen geringen Rückstand, der keine Indolreaktionen zeigte. Die mit Äther erschöpfte sodaalkalische Lösung wurde mit Schwefelsäure angesäuert und abermals ausgeäthert. Der Äther hinterließ ein krystallisiertes Produkt, das, aus heißem Wasser umkrystallisiert, langsam büschelförmig angeordnete Nadeln abschied, die die Reaktionen der Indolessigsäure zeigten, jedoch viel niedriger unter 100° schmolzen. Offenbar lag ein durch Benzoesäure noch verunreinigtes Produkt vor. Die Reaktionen sowie die Isolierungsbeweise lassen es jedoch als sehr wahrscheinlich erscheinen, daß Indolessigsäure vorlag[1]).

Perfusion mit Indoläthylaminchlorhydrat.

Versuch 2.

Kaninchen 3100 g. 250 ccm Ringer-Lösung. Abfluß 120 bis 150 ccm pro Minute. Dauer 3¼ Stunden. Die Flüssigkeit riecht etwas fäkulent. Nach Enteiweißung und Konzentration Ausätherung in saurer Lösung. Der Ätherrückstand (0,5 g) ist gelblich gefärbt und krystallisiert sehr leicht. Die Substanz schmilzt unscharf, beginnt bei 130° zu sintern. Die Substanz wird in Äther gelöst und mit Soda ausgeschüttelt, im Äther verbleiben 0,05 g rötliche Substanz, die in Alkohol mit etwas Tierkohle entfärbt wird. Der Rückstand schmilzt unscharf bei ca. 50°, ist also als Indoläthylalkohol (Schmelzpunkt 59°) anzusprechen.

Die Sodalösung wird mit Salzsäure angesäuert und mit Äther ausgezogen. Der Ätherrückstand, 0,328 g, besaß den Schmelzpunkt 162 bis 163°.

V. β-Imidazolyläthylamin.

Noch besser als alle anderen Amine erschien das β-Imidazolyläthylamin geeignet, über die unmittelbaren Veränderungen der in den Kreislauf gebrachten Amine Aufschluß zu geben und diese mit der Darmmethode nachzuweisen. Die biologische

---

[1]) Anm. bei der Korrektur: Erst nach Beendiguug unserer Arbeit erkannten wir aus einem Referat des Chem. Centralbl. **1913** II 889, daß Ewins und Laidlaw (Biochem. Journ. 7, 18 bis 25) das Schicksal des Indoläthylamins im Tierkörper in analoger Weise wie wir studiert hatten. Ihre Resultate stimmen mit den unseren im wesentlichen überein. Die von ihnen aus dem Harn isolierte und über das Pikrat gereinigte Säure vom F. 94° wird als Indolacetursäure angesprochen.

Methode war für die anderen Substanzen weniger brauchbar, weil nur bei starken Vergiftungen eine merkliche Verschiebung in der Wirkungsstärke des Serums erwartet werden konnte (vgl. S. 329). Die viel größere Empfindlichkeit des Darmes gegen β-Imidazolyläthylamin hingegen gibt die Möglichkeit, einige Fragen zu beantworten, die mit den minder wirksamen Substanzen nicht eindeutig gelöst werden konnten.

Zunächst konnte festgestellt werden, daß bei genügend langsamer Infusion und genügender Verdünnung der β-Imidazolyläthylaminlösung die Entgiftung vollständig ist. Diese hatte schon Oehme (l. c.) nachgewiesen. Dennoch gestattet unsere empfindlichere Methodik ein noch schärferes Urteil. Wenn ein Kaninchen 150 bis 200 ccm Blut besitzt, so muß sich nach unserer Methode noch deutlich nachweisen lassen, wenn 0,1 mg unverändertes β-Imidazolyläthylamin im Organismus kreist. Tatsächlich läßt sich dem Blut zugesetztes β-Imidazolyläthylamin in dieser Verdünnung deutlich nachweisen (vgl. Fig. 2 und 3).



Fig. 2.
Wirkung von 0,0000005 g in Serum gelöstem β-Imidazolyläthylaminchlorhydrat auf den in 100 ccm Ringer suspendierten Meerschweinchendarm.

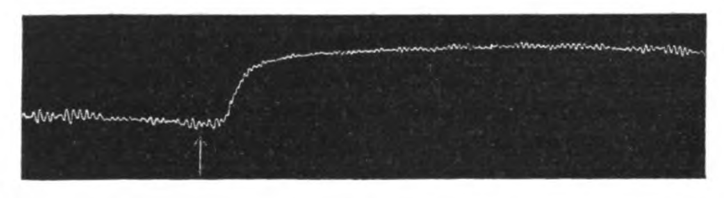


Fig. 3.
Wirkung von 1 ccm Harn, 0,000001 g β-Imidazolyläthylamin enthaltend.

Bei der von uns gehandhabten langsamen Infusionsmethode gelang es, bis 50 mg β-Imidazolyläthylamin zu infundieren. Während der Infusion wurden wiederholt Serumproben entnommen. Es konnte nie eine erhöhte Giftigkeit nachgewiesen

werden. Die Entgiftung erfolgt also bei geeigneter Stromstärke vollständig.

Dies ist jedoch nicht der Fall, wenn die Infusion rascher erfolgt, wie dies in Versuch 3 (S. 345) der Fall war. Hier starb das Tier infolge der zu raschen Infusion unter den schon wiederholt beschriebenen Symptomen der β-Imidazolyläthylaminvergiftung. Vor dem Exitus war ihm Blut entnommen worden. Dieses zeigte sich erheblich wirksamer als das Normalblut. Das Vorhandensein von nachweisbarem Amin (β-Imidazolyläthylamin) bedeutet also schon einen hohen Grad von Vergiftung, der in unserem Falle letalen Ausgang zur Folge hatte. Es ist deshalb kaum wahrscheinlich, daß unter normalen physiologischen Verhältnissen oder bei chronischen Vergiftungen nachweisbare Mengen von Aminen im Blut kreisen. Solche sind höchstens bei starken akuten Intoxikationen zu erwarten.

Von Interesse waren auch die Harnuntersuchungen. Nach langsamer Infusion war der Harn stets wirkungslos. In einigen Fällen besaß der während der Infusion gelassene Harn eine deutliche Wirksamkeit. Unter speziellen Umständen kann also unverändertes Amin die Niere passieren. Es wird aber nur ein ganz geringer Teil des Giftes auf diese Weise unschädlich gemacht.

Die Entgiftung des β-Imidazolyläthylamins wie auch der übrigen Amine könnte außer auf oxydativem Wege auch durch Kupplung erfolgen. Wiewohl bei den bisher untersuchten Amienn die Oxydation in einwandfreier Weise nachgewiesen war, so blieb immerhin unentschieden, ob nicht ein kleiner Teil doch auf dem Wege der Kupplung entgiftet wird, zumal die entsprechenden Oxydationsprodukte nie quantitativ nachgewiesen werden konnten. Es wäre z. B. denkbar, daß der nicht als p-Oxyphenylessigsäure oder Phenylessigsäure nachweisbare Anteil des Amins als Acetyl- oder Glycylprodukt ausgeschieden würde, ein Entgiftungsweg, der mit Hinblick auf die Bildung von Hippursäure nach Benzoesäurezufuhr und die Bildung von Acetylaminobenzoesäure nach Eingabe von Aminobenzoesäure[1]) wohl

[1]) Marie Hensel, Zeitschr. f. physiol. Chem., Heft 91, S. 21, Heft 93, S. 400.

denkbar erscheint. Das β-Imidazolyläthylamin müßte demnach als Glycyl-β-Imidazolyläthylamin

$$NH_2CH_2.CO.NH.CH_2.CH_2C = CH \quad | \quad | \quad N \quad NH \quad CH$$

oder als Acetyl-β-Imidazolyläthylamin

$$CH_3.CO.NH.CH_2.CH_2—C = CH \quad | \quad | \quad N \quad NH \quad CH$$

nachweisbar sein. Da diese Produkte weniger wirksam sind als die freien Amine[1]), so würde sich die Anwesenheit geringer Mengen von Glycyl-p-Oxyphenyläthylamin bzw. Glycylphenyläthylamin im Harn kaum feststellen lassen.

Anders ist dies beim Glycyl-β-Imidazolyläthylamin. Dieses besitzt an sich schon eine merkliche Giftigkeit. Sie wird jedoch noch bedeutend größer, wenn man es der Säurespaltung unterwirft[2]), weil dann nicht mehr die Wirkung des Glycyl-β-Imidazolyläthylamins, sondern die des ca. 100mal toxischeren β-Imidazolyläthylamins zur Geltung kommt. Wenn also ein Teil des β-Imidazolyläthylamins als Glycyl-β-Imidazolyläthylamin ausgeschieden wird, so müßte der Harn eine geringe Wirksamkeit zeigen, die nach Hydrolyse mit Salzsäure um ca. das 100fache gesteigert wird. Dies war nun bei keinem unserer β-Imidazolyläthylaminversuche der Fall. Es kann daher ausgeschlossen werden, daß der Organismus bei der Entgiftung proteïnogener Amine den Kupplungsweg beschreitet, er wählt zur Inaktivierung vielmehr den sichereren und gründlicheren oxydativen Weg.

Eine weitere Bestätigung der vorstehenden Überlegungen bietet ein Versuch, bei dem einem Kaninchen 0,823 g Glycyl-β-Imidazolyläthylamin infundiert wurde. Der ausgeschiedene Harn zeigte eine am Darm deutlich sichtbar werdende Giftigkeit, die durch Säurespaltung erheblich vermehrt werden konnte.

---

[1]) Vgl. Guggenheim, diese Zeitschr. **51**, 369.
[2]) Vgl. Guggenheim, diese Zeitschr. **51**, 381.

Das Glycyl-β-Imidazolyläthylamin wird offenbar unverändert ausgeschieden.

Über die Produkte, die bei der Oxydation des β-Imidazolyläthylamins im Organismus entstehen, suchten wir durch Verarbeitung der nach Durchströmung der überlebenden Kaninchenleber erhaltenen Perfusionsflüssigkeit Aufschluß zu gewinnen. Wir stellten zunächst fest, daß das β-Imidazolyläthylamin durch die Durchblutung nicht völlig entgiftet wird. Wurde 1 g β-Imidazolyläthylamin im Verlauf mehrerer Stunden der Perfusionsflüssigkeit zugefügt, so zeigte diese am Schluß eine Wirksamkeit, die auf keine erhebliche Zerstörung des Amins hinwies.

Immerhin konnten wir bei der Perfusion mit kleinen Mengen (10 mg) β-Imidazolyläthylamin nachweisen, daß die Leber imstande ist, β-Imidazolyläthylamin zu entgiften. Auch hier war nach 3 Stunden die Entgiftung nicht vollständig. Man könnte diese mangelhafte Entgiftung auf eine Schädigung der oxydativen Fähigkeiten der Leber durch das β-Imidazolyläthylamin zurückführen, doch ist dies ausgeschlossen, da nachträglich zugesetztes Isoamylamin von derselben Leber zu Valeriansäure oxydiert wird.

Infusion von β-Imidazolyläthylamin.

Versuch 1.

1 mg β-Imidazolyläthylamin in 30 ccm Ringer-Lösung gelöst. Infusion aus der Bürette in eine rechtsseitige Ohrvene, im Verlauf von 30 Minuten.

Blutprobe 1. Entnommen während der zweiten Hälfte der Infusionsdauer und in den nächsten 15 Minuten aus der linken Ohrvene 8 Tropfen des Serums: keine Tonussteigerung. 8 Tropfen Kontrollserum (Blut unmittelbar vor der Infusion entnommen): minimale Tonussteigerung.

Blutprobe 2. 20 Minuten nach Schluß der Infusion im Verlauf von 1 Minute aus der linken Ohrvene:

3 Tropfen Serum II: geringe Tonussteigerung;
8 „ „ II: deutliche „
2 „ „ II: ganz geringe „

II. Infusion. Beginn 1 Stunde nach Beginn der ersten Infusion. Dauer 30 Minuten.

Blutprobe 3. Entnommen während der ersten Hälfte der Infusion.

4 Tropfen Serum III: deutliche Tonussteigerung. Imido zur Kontrolle des Darmes: starke Steigerung. 8 Tropfen Serum III: geringe Tonussteigerung.

Blutprobe 4. Entnommen in der halben Stunde unmittelbar nach der zweiten Infusion.

10 Tropfen Serum IV: deutliche Steigerung.

Blutprobe 5. 1 Stunde nach der Infusion.

5 Tropfen Serum V: keine Steigerung;

5 „ „ V: minimale „

Versuch 2.

Infusionsversuch am Kaninchen (schwarz), 2100 g.

Entnahme von Kontrollserum vor dem Versuch.

Infusion von 0,04 g β-Imidazolyläthylamin in 65 ccm Ringer-Lösung $5^h\,15'$ bis $6^h\,05'$.

Blutprobe 1: $5^h\,30'$, nachdem $^1/_3$ der Infusionsflüssigkeit eingeflossen.

Blutprobe 2: $5^h\,45'$.

Blutprobe 3: $6^h\,15'$. 10 Minuten nach Schluß der Infusion.

Blutprobe 4: $6^h\,45'$.

Harn nach dem Versuch.

1. Teil direkt geprüft nach Neutralisation.
2. „ konzentriert und mit Alkohol extrahiert.
3. „ mit HCl hydrolysiert und nach Neutralisation geprüft. Alle 3 Portionen am Darm unwirksam.

Die Aktivität der Blutproben von Versuch 1 und 2 und des Harnes von Versuch 2 ist gegenüber normalem Serum nicht erhöht.

Versuch 3.

Imidoinfusion. Kaninchen, 2000 g (weiß).

Kontrollserum unmittelbar vor dem Versuch entnommen.

Blutprobe 1. Entnommen kurz nach Beginn der Infusion, während das Tier Krämpfe hat.

Blutprobe 2. Unmittelbar nach Probe 1 entnommen, während das Tier unter Konvulsionen zugrunde geht. Deutlich stärker wirksam als Normalserum.

Versuch 4.

Imidoinfusion. Kaninchen, 2200 g.

18. VI. Vor der Infusion Entnahme von Kontrollserum.

I. Infusion. 0,03 g β-Imidazolyläthylamin in 70 ccm Ringer-Lösung 5^h bis $5^h\,35'$.

II. Infusion. 0,03 g β-Imidazolyläthylamin in 50 ccm Ringer-Lösung $5^h\,35'$ bis $6^h\,30'$.

Blutprobe 2 6h 30'. Während des Versuchs 16 ccm Harn I, nach dem Versuch bis 6h 30'. 19. VI. 240 ccm Harn II.

Harn I: 0,2 ccm sind deutlich wirksam.

" II: unwirksam.

Versuch 5.

Kaninchen, 3150 g.

Infusion von 50 mg β-Imidazolyläthylamin von 4h 15' bis 8h 15'.

Blutprobe 1: 6h 15'.

Blutprobe 2: 6h 55'.

Blutprobe 3: 8h 20'.

4h 45', also während der Infusion, wurden 30 ccm Harn entleert: Harn I.

Der 12 Stunden nach der Infusion entleerte Harn betrug 250 ccm: Harn II.

Die 3 Blutproben zeigten gegenüber normalem Kaninchenserum keine erhöhte Wirksamkeit. Von Harn II besaß 1 ccm deutliche Wirkung. Minimale wirksame Dosis 0,1 ccm gleich $^1/_{2000000}$ g β-Imidazolyläthylamin. Daraus berechnet sich die gesamte unverändert ausgeschiedene Menge von β-Imidazolyläthylamin auf ca. 0,0001 g. Die Entgiftung kann daher als eine nahezu vollständige bezeichnet werden.

Versuch 6.

Kaninchen, 2100 g.

29. VI. Infusion von 0,823 g Glycyl-β-Imidazolyläthylaminchlorhydrat, gelöst in 200 ccm Ringer-Lösung.

Dauer der Infusion 3 Stunden. Gelegentlich Zuckungen, sonst Tier völlig ruhig.

Harn der nächsten 24 Stunden 234 ccm gleich Harn I.

" " zweiten 24 " " " II.

" " dritten 24 " " " III.

Harn I erwies sich nach Neutralisation deutlich wirksam am Meerschweinchendarm.

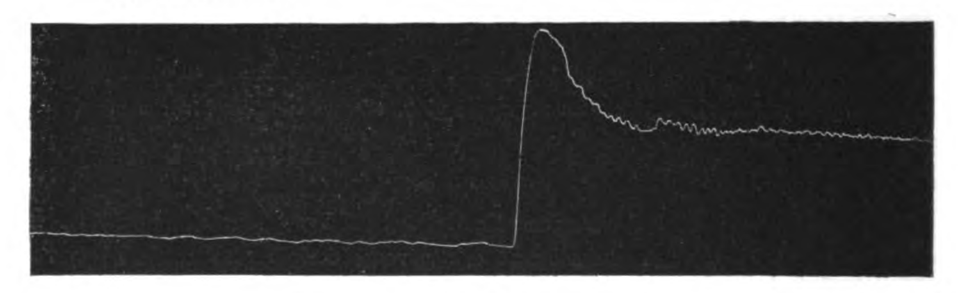


Fig. 4.

Wirkung von 0,5 ccm Glycyl-β-I-Harn I auf den in 100 ccm Ringer suspendierten Meerschweinchendarm gefügt.

Grenzdose: 0,005 ccm.
Harn II war noch schwach wirksam.
Grenzdose: 0,1 ccm.
Harn III erwies sich als unwirksam.

10 ccm Harn I wurden der Spaltung mit konz. HCl unterworfen, zur Trockne verdampft, bis die Salzsäure möglichst vertrieben war, dann vollständig neutralisiert. Das ausgeschiedene schwarze Pigment wurde abfiltriert, die Flüssigkeit wieder auf 10 ccm gebracht und in der üblichen Weise am überlebenden Meerschweinchendarm geprüft. 0,00005 ccm bewirkten eine eben merkbare Tonussteigerung, sind also als Grenzdosis anzusehen. 0,0001 ccm wirkte schon sehr deutlich.

Durch die Spaltung mit Salzsäure ist also die Aktivität des nach der Glycyl-β-Imidazolyläthylamininfusion ausgeschiedenen Harnes auf das 100fache erhöht worden. Die durch Hydrolyse hervorgerufene Aktivitätssteigerung zeigt sich deutlich in Fig. 5.

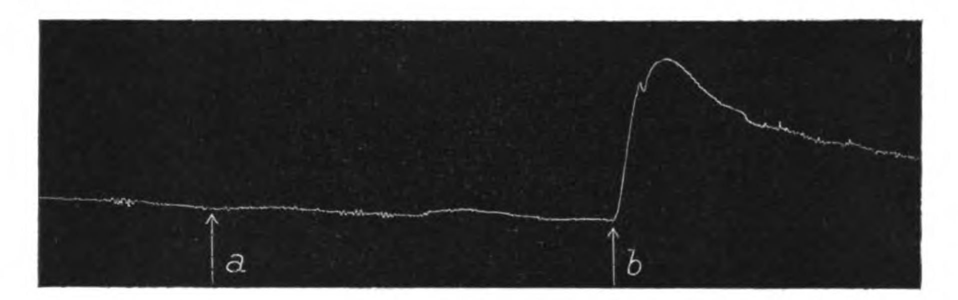


Fig. 5.

Bei a wurde 0,001 ccm Harn vor, bei b 0,001 ccm nach der Spaltung zugefügt.

Dies spricht für die Annahme, daß das infundierte Glycyl-β-Imidazolyläthylamin im Harn als solches ausgeschieden wird und im Organismus keine weitere Veränderung erleidet. Da das Glycyl-β-Imidazolyläthylamin selber noch eine, wenn auch gegenüber dem β-Imidazolyläthylamin herabgeminderte Aktivität besitzt, so besitzt der ausgeschiedene Harn eine merkliche Aktivität. Der Umstand, daß die Spaltung mit Salzsäure die Aktivität des Harns um das 100fache erhöht, bestätigt die Annahme, daß im Harn Glycyl-β-Imidazolyläthylamin enthalten ist.

Verschiedene in der gleichen Weise gespaltene inaktive

Harne haben nach der Spaltung nie eine merkliche Aktivität am Darmpräparat gezeigt.

Perfusionsversuche mit β-Imidazolyläthylamin.

Bei mehreren Durchströmungsversuchen von Kaninchenleber, bei denen jeweils 1 g β-Imidazolyläthylamin der Durchströmungsflüssigkeit allmählich zugesetzt wurde, prüften wir die Aktivität der Flüssigkeit nach der Durchströmung am Meerschweinchendarm und konnten auch nach 4- bis 5stündiger Versuchsdauer stets eine erhebliche β-Imidazolyläthylaminwirkung feststellen, die kaum geringer schien als die einer frischen β-Imidazolyläthylaminlösung von entsprechender Konzentration. Daß aber bei der Durchströmung doch eine partielle Entgiftung stattgefunden hat, ergibt sich aus Versuch 7.

Versuch 7.

Kaninchen, 2700 g.

1000 ccm Ringer-Lösung. Abstrom 150 ccm. Durchströmungsdauer 2 Stunden.

11^h 15′: Beginn der Perfusion.

11^h 25′: Entnahme einer Kontrollprobe der Perfusionsflüssigkeit. Zusatz von 0,01 g β-Imidazolyläthylamin.

11^h 30′: Entnahme einer Probe vor der Leberpassage gleich Probe 1. Die weiteren Probeentnahmen 2 bis 13 erfolgten in Abständen von 10 Minuten.

1^h 20′: Die Durchströmungsflüssigkeit wurde entfernt, die Leber und Apparatur mit Ringer-Lösung ausgewaschen und durch neue Ringer-Lösung ersetzt, der 0,5 g Isoamylaminchlorhydrat zugesetzt wurden. Der nach kurzer Zeit auftretende Geruch nach Valeriansäure bewies die noch vorhandene Vitalität der Leber.

Die Proben 1 bis 13 wurden gemeinsam mit der Kontrolle am Meerschweinchendarm geprüft. Sämtliche Proben waren wirksam. Doch machte sich eine allmähliche Abnahme der Aktivität bemerkbar, die in Probe 13 am ausgesprochensten zum Ausdruck kam.

Die progressive Entgiftung zeigte sich deutlicher als durch Ermittelung der Minimaldosen, die nur wenig auseinanderlagen in einer Versuchsanordnung, die aus folgenden Kurven ersichtlich ist.

In Fig. 6 wurde die Wirkung einer vorausgegangenen Dosis von 1 ccm Probe 13 durch die Zugabe von 1 ccm der giftigeren

Probe 1 deutlich superponiert, während in Fig. 7, wo die Proben in umgekehrter Reihenfolge zugegeben wurden, eine nachherige Wirkung nur schwach angedeutet war.

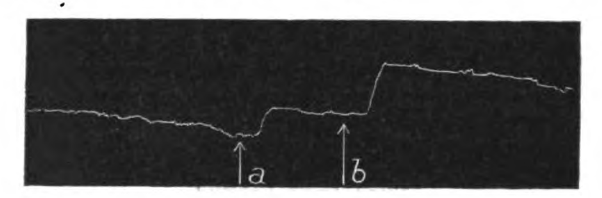


Fig. 6.
Bei a erfolgte Zugabe von 1 ccm XIII, bei b 1 ccm I.

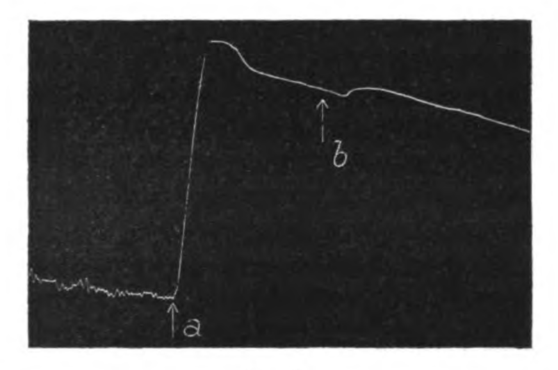


Fig. 7.
Bei a wurde 1 ccm der Probe I, bei b 1 ccm der Probe XIII zugegeben.

Für eine teilweise Entgiftung des β-Imidazolyläthylamins durch Leberdurchströmung spricht auch die chemische Verarbeitung der oben erwähnten Perfusionsflüssigkeiten, bei denen größere Mengen (1 g) β-Imidazolyläthylamin zugegeben worden waren.

Die nach der Enteiweißung eingeengten Flüssigkeiten wurden bei bicarbonatalkalischer Reaktion mit $HgCl_2$ gefällt, die Hg-Verbindungen ausgewaschen, bis sie keine alkalische Reaktion mehr zeigten und nach Zusatz von verdünnter HCl mit H_2S zersetzt. Die Zersetzungsflüssigkeit wurde konzentriert und mehrmals mit Wasser abgedampft, bis die freie Salzsäure vertrieben war. Hierauf wurde der braune Sirup in wenig Wasser gelöst, mit wenig Pikrinsäure versetzt, wobei sich die dunkel färbenden Substanzen in braunen Flocken abschieden. Diese wurden rasch abfiltriert und das Filtrat mit einem Überschuß gesättigter Pikrinsäurelösung versetzt. Es schieden sich sofort die charakteristischen Krystalle von β-Imidazolyläthylaminpikrat ab, die nach einmaligem Umkrystallisieren den richtigen Schmelzpunkt zeigten.

Das Filtrat von β-Imidazolyläthylaminpikrat wurde nach Zusatz von konz. HCl mit Äther von Pikrinsäure befreit und eingedampft. Der geringe krystallinische Rückstand war zum Teil in Alkohol löslich und zeigte am Darm eine erhebliche Wirksamkeit, die jedoch geringer war als die einer entsprechenden β-Imidazolyläthylaminlösung. Die Diazoreaktion war stark positiv. Ob die Aktivität am Darm auf einer geringen Beimengung von β-Imidazolyläthylamin beruht oder dem veränderten Imidazolderivat zukommt, kann erst entschieden werden, wenn dieses in größerer Quantität vorliegt und chemisch identifizierbar ist. Wir vermuten jedoch, daß es sich um Imidazolessigsäure handelt.

Zusammenfassung.

Durch die vorstehenden Untersuchungen ist nachgewiesen, daß die proteinogenen Amine Isoamylamin, Phenyläthylamin, p-Oxyphenyläthylamin, Indoläthylamin, β-Imidazoläthylamin im Organismus entgiftet werden.

Die Entgiftung erfolgt nicht durch Kupplung, sondern durch Desamidierung und Oxydation. Als Endprodukte dieser Vorgänge resultieren Carbonsäuren, die gleichviel C-Atome enthalten wie die entsprechenden Amine. Also Valeriansäure aus Isoamylamin, Phenylessigsäure aus Phenyläthylamin, p-Oxyphenylessigsäure aus p-Oxyphenyläthylamin, Indolessigsäure aus Indoläthylamin. Der Nachweis von β-Imidazolessigsäure aus β-Imidazolyläthylamin ist bis jetzt nicht gelungen, jedoch wahrscheinlich gemacht.

Die Carbonsäuren werden als solche ausgeschieden oder im Organismus weiter verändert.

Zwischenprodukte bei der Oxydation der Amine zu den Carbonsäuren sind die entsprechenden Alkohole Isoamylalkohol, Phenyläthylalkohol, p-Oxyphenyläthylalkohol.

Die Alkohole konnten bei der Perfusion der überlebenden Leber mit Aminen in einzelnen Fällen isoliert und charakterisiert werden.

Eine Bestätigung dieser Feststellung bietet die Tatsache, daß die Alkohole Isoamylalkohol, Phenyläthylalkohol, p-Oxyphenyläthylalkohol in der überlebenden Leber zu den entsprechenden Säuren oxydiert werden.

Normales Blut und Serum von Mensch und Tieren, speziell von Kaninchen, zeigen tonussteigernde Wirkung auf den überlebenden Meerschweinchendarm. Die Wirkung ist einer kochbeständigen, in Alkohol löslichen Substanz zuzuschreiben.

Der Einfluß der Temperatur und der Gifte auf Enzymwirkung, Gärung und Wachstum.

Von

Otto Rahn.

(Vor dem Kriege Assistant Professor of Bacteriology, University of Illinois, U. S. A.)

(Eingegangen am 22. Oktober 1915.)

Mit 5 Figuren im Text.

Inhalt.

1. Der Temperaturkoeffizient des Wachstums.

In den Lehrbüchern der Biologie und Physiologie findet man gewöhnlich die Behauptung, daß das Wachstum innerhalb gewisser Grenzen dem van't Hoffschen Gesetze folgt. Tatsächlich findet man, daß der Temperaturkoeffizient des Wachstums bei mittleren Temperaturen zwischen 2 und 3 liegt, doch stimmt dies nur für engere Temperaturgrenzen, und für den größeren Teil der Wachstumsbreite gilt dies nicht. Wir besitzen eine Anzahl sehr sorgfältiger Messungen über die Wachstumsgeschwindigkeit der Bakterien bei verschiedenen Temperaturen, die sehr deutlich gegen eine allgemeine Anwendung des van t'Hoffschen Gesetzes sprechen. Tabelle I zeigt die Temperaturkoeffizienten nach den Daten von Marshall Ward mit B. ramosus und von Barber mit Bact. coli.

Tabelle I.

Temperaturkoeffizienten des Wachstums für 10°.

B. ramosus		Bact. coli			
14—24°	4,8	15—25°	4,2	29—39°	1,8
15—25°	3,4	17—27°	2,8	31—41°	1,4
16—26°	2,8	19—29°	2,7	33—43°	1,3
18—28°	2.3	21—31°	2,3	35—45°	1,04
21—31°	1,8	23—33°	2,1	37—47°	0,42
24—34°	1,2	25—35°	2,0	39—49°	0,00
26—36°	1,2	27—37°	1,9		
28—38°	0,9				
30—40°	0,7—0,0				
31—41°	0,0				

Der Temperaturkoeffizient ist nicht konstant, sondern wechselt von unendlich bis null; selbstverständlich muß es da eine Periode geben, wo er zwischen 2 und 3 liegt. Auch unsere alltägliche Erfahrung über das Wachstum der Pflanzen lehrt uns dasselbe; nahe dem Gefrierpunkt ist der Temperaturkoeffizient unendlich, beim Temperaturmaximum ist er null.

Die folgenden Seiten bringen eine Erklärung der Abweichungen bei hohen Temperaturen. Die Erklärung beruht auf Tammanns Theorie von der Optimumtemperatur der Enzyme, die hier ausführlich mathematisch durchgeführt ist. Von den Enzymen wird dann auf die Gärung in lebenden Zellen geschlossen, und hier kommt eine neue Annahme hinzu, die nach des Verfassers Ansicht kaum bestreitbar ist und die Unterschiede zwischen Optimumtemperatur der Enzymwirkung und

der Gärung durch lebende Zellen höchst einfach erklärt. Dieselbe Annahme erklärt auch die Widersprüche zwischen Blackmans Versuchen über Kohlensäureassimilation und den alltäglichen Erfahrungen über das Wachstum der Pflanzen. Darauf folgt der Hinweis auf eine recht weitgehende Analogie zwischen dem Einfluß der Temperatur und der Gifte auf Lebensvorgänge.

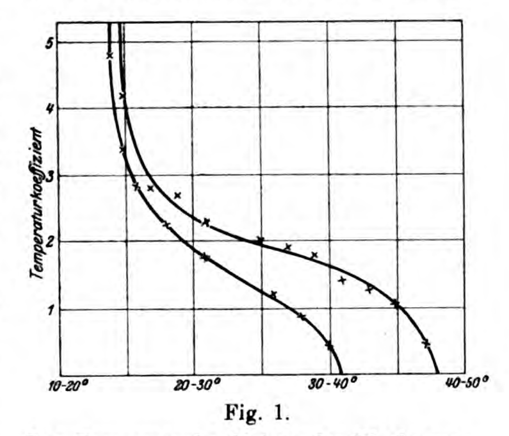


Fig. 1.
Der Temperaturkoeffizient des Wachstums bei verschiedenen Temperaturen.

Die Ausführungen enthalten keine neuen Versuche, da alles Material zur Rechtfertigung der hier erwähnten Ansichten bereits fertig vorlag.

2. Der Einfluß der Temperatur auf die Enzymwirkung.

a) Tammanns Versuche mit Emulsin.

Tammanns Theorie der Enzymwirkung bei verschiedenen Temperaturen ist schon 20 Jahre alt und bedarf vielleicht keiner ausführlichen Erörterungen. Da jedoch die weiteren Ausführungen auf Anwendungen und Analogien des Tammannschen Prinzips beruhen, so sind die Gleichungen ausführlich gegeben, um sie zum Vergleich bei der Theorie der Giftwirkungen heranzuziehen. Auch werden die genauen Berechnungen manchem willkommen sein, da Tammann sich auf eine Abschätzung der Reaktionskonstanten beschränkte.

Bei enzymatischen Vorgängen sind stets zwei Reaktionen untrennbar miteinander verknüpft, die eigentliche Enzymwirkung und der Enzymzerfall. Der letztere kann für sich studiert werden, indem man die Enzymmenge in wäßrigen Lösungen mißt. Tammann fand, daß die Zersetzung des Emulsins in Wasser eine monomolekulare Reaktion mit sehr hohem Temperaturkoeffizienten ist.

Tabelle II.

Zersetzung des Emulsins in Wasser.

Temperatur °C	$K = \frac{1}{t} \ln \frac{100}{100-x}$	Temperatur-grenzen °C	Temperatur-koeffizient für 10°	A'
40	0,106	—	—	—
50	0,564	40—50	5,3	17000
60	1,84	50—60	3,3	12000
65	6,58	60—65	12,8	28600
70	13,6	65—70	4,2	16800
75	38,8	70—75	6,2	23900
		Durchschnitt . . .	6,36	19800

Die Zersetzung folgt dem Massenwirkungsgesetz

$$-\frac{dx}{dt} = K(M - x),$$

wo M die anfängliche Enzymmenge und x die nach der Zeit t zersetzte Menge ist. Durch Integration erhält man

$$Kt = \ln \frac{M}{M-x},$$

$$\frac{M-x}{M} = e^{-Kt},$$

$M - x$ ist die zur Zeit t noch vorhandene Enzymmenge und soll mit E bezeichnet werden.

$$E = Me^{-Kt} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \quad 1)$$

In dieser Gleichung wechselt K mit der Temperatur nach der Formel von Arrhenius:

$$K_{T_1} = K_{T_0} e^{A' \frac{T_1 - T_0}{T_1 T_0}}.$$

Zur Einführung dieser Korrektur müssen wir eine Normaltemperatur annehmen; wir wählen mit Tammann 60°, also $T_0 = 273^0 + 60^0 = 333^0$. Die Zersetzungsgeschwindigkeit bei 60° nennen wir K'. Wir erhalten dann die allgemeine Gleichung:

$$E = Me^{-tK' e^{A' \frac{T_1 - T_0}{T_1 T_0}}} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \quad 2)$$

Der lange Ausdruck für E ist bei den folgenden Berechnungen hinderlich, und wir benutzen daher die folgende Abkürzung:

$$Q' = e^{A' \frac{T_1 - T_0}{T_1 T_0}}.$$

Dadurch erhalten wir für E den einfacheren Ausdruck:

$$E = Me^{-K'Q't} \quad \ldots\ldots\ldots \quad 2a)$$

In dieser Gleichung sind alle Konstanten aus Tabelle II bekannt, und man kann daraus die in jedem Augenblick bei jeder Temperatur vorhandene Emulsinmenge berechnen. Tabelle III zeigt die Enzymmengen zu verschiedenen Zeiten und Temperaturen in Prozenten der ursprünglichen Menge.

Tabelle III.

Die Emulsinmenge zu verschiedenen Zeiten und Temperaturen in Prozenten.

Zeit	25°	35°	45°	55°	65°	75°
0,5 Std.	99,92	99,28	94,74	69,18	10,67	t = 1 Min. . . . 66,70
1 „	99,84	98,61	89,76	47,85	1,14	2 „ . . . 44,49
2 „	99,68	97,58	80,58	22,90	0,01	5 „ . . . 13,20
3 „	99,52	95,89	72,33	10,96	0	10 „ . . . 1,74
4 „	99,36	94,56	64,92	5,24	0	20 „ . . . 0,03
5 „	99,20	93,04	58,25	2,51	0	
10 „	98,42	86,96	33,96	0	0	
20 „	96,86	75,62	11,54	0	0	
30 „	95,33	65,75	3,92	0	0	
40 „	93,82	57,18	1,33	0	0	
50 „	92,33	48,59	0,45	0	0	

Zum besseren Verständnis dieser Tabellen ist die Konstruktion von Raumkurven aus Papier zu empfehlen. Man sieht an diesen Modellen manches, was in der Tabelle nicht so klar hervortritt. Fig. 2 zeigt ein Gipsmodell nach Tabelle III, daß die Enzymmengen für die ersten 5 Stunden angibt. Das Modell sowie die später folgenden verdanke ich Herrn B. L. Bowling aus dem Zementlaboratorium der Universität Illinois.

Die Zersetzung des Salicins durch Emulsin folgt einem einfachen Gesetz: die Zersetzungsgeschwindigkeit in jedem Augenblick ist proportional der Enzymmenge und der Salicinmenge.

$$-\frac{dy}{dt} = KE(b - y),$$

wo b die anfängliche Salicinmenge, y den in der Zeit t zersetzten Betrag angibt. K ist von der Temperatur abhängig.

$$K_{T_1} = K_{T_0} e^{A'' \frac{T_1 - T_0}{T_1 T_0}}.$$

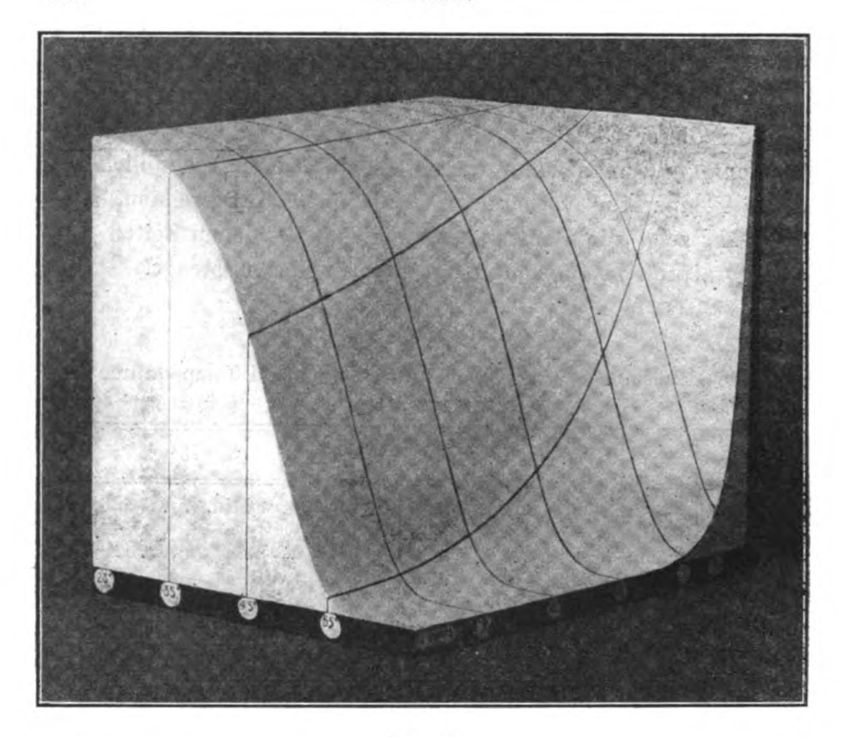


Fig. 2.
Die Enzymmengen in den ersten 5 Stunden bei verschiedenen Temperaturen.

Wir wählen wiederum 60^0 als Normaltemperatur und nennen die Reaktionskonstante bei dieser Temperatur K''. Ferner kürzen wir ab wie zuvor:

$$Q'' = e^{-A'' \frac{T_1 - T_0}{T_1 T_0}}.$$

Dadurch ergibt sich:

$$-\frac{dy}{dt} = K'' Q'' E (b - y),$$

und nach Einsetzung des Wertes für E aus Gleichung 2a:

$$-\frac{dy}{dt} = K'' Q'' M e^{-K'Q't} (b - y).$$

Wir integrieren:

$$-\ln (b - y) = -\frac{K'' Q'' M}{K' Q'} e^{-K'Q't} + C \quad . \quad . \quad 3)$$

Für $t = 0$ wird auch $y = 0$, und die Gleichung vereinfacht sich zu

$$-\ln b = \frac{K''Q''M}{K'Q'} + C.$$

Durch Subtraktion dieser Gleichung von der vorhergehenden entfernen wir die Integrationskonstante

$$\ln \frac{b}{b-y} = \frac{K''Q''}{K'Q'} M(1 - e^{-K'Q't}) \quad . \quad . \quad . \quad . \quad 4)$$

Bei konstanter Temperatur ist $K''Q''$ die Reaktionskonstante, und kann berechnet werden, wenn y gegeben ist. Tammann hat die y Werte, d. h. die Zersetzung von Salicin durch Emulsin zu verschiedenen Zeiten für verschiedene Temperaturen bestimmt, und aus diesen Daten kann $K''Q''$ berechnet werden.

Tabelle IV.

Die Zersetzung des Salicins zu verschiedenen Zeiten bei verschiedenen Temperaturen, und die Reaktionskonstante.

Zeit	25°		45°		65°	
	y %	$K''Q''$	y %	$K''Q''$	y %	$K''Q''$
1 Std.	13	0,001 392	18	0,00 209	11	0,00 527
3 „	32	0,001 282	51	0,00 229	16	0,00 781
5 „	58	0,001 725	61	0,00 244	19	0,00 945
8 „	65	0,001 320	68	0,00 213	21	0,01 050
12 „	76	0,001 200	73	0,00 195	23	0,01 160
26 „	91	(0,000 948)	84	0,00 211	28	0,01 460
50 „	98	(0,000 814)	89	0,00 241	30	0,01 600
74 „	99	(0,000 662)	92	0,00 274	31	0,01 680
Durchschnitt	—	0,001 436	—	0,00 227	—	?

Bei 25° stimmen die Konstantenwerte gut überein, bis nach 26 Stunden Bakterienwachstum einsetzte und die Zersetzung störte. Bei 45° ist die Übereinstimmung auch gut; bei 65° dagegen ist gar keine Übereinstimmung vorhanden. Dies erklärt sich aus der bekannten Tatsache, daß Enzyme durch ihr Substrat gegen Temperaturschädigungen geschützt werden. Tammann fand, daß 99% alles Emulsins bei 65° in 45 Minuten zerstört waren, wenn das Emulsin in Wasser aufgeschwemmt war, während es in Gegenwart von Salicin noch nach 26 Stunden wirksam ist (Tabelle IV).

Aus den Daten für $K''Q''$ ergibt sich $A'' = 2160$ und $K'' = 0{,}00308$. Tammann erhielt durch annähernde Schätzung $A'' = 2935$. Der Temperaturkoeffizient der Enzymwirkung für 10^0 ist danach 1,26. Die Reaktionskonstanten für alle andern Temperaturen sind nun leicht zu berechnen.

Tabelle V.

Die Reaktionskonstanten für verschiedene Temperaturen.

	25°	35°	45°	55°	65°	75°
$K''Q''$	0,001435	0,001809	0,002270	0,002790	0,003388	0,004075

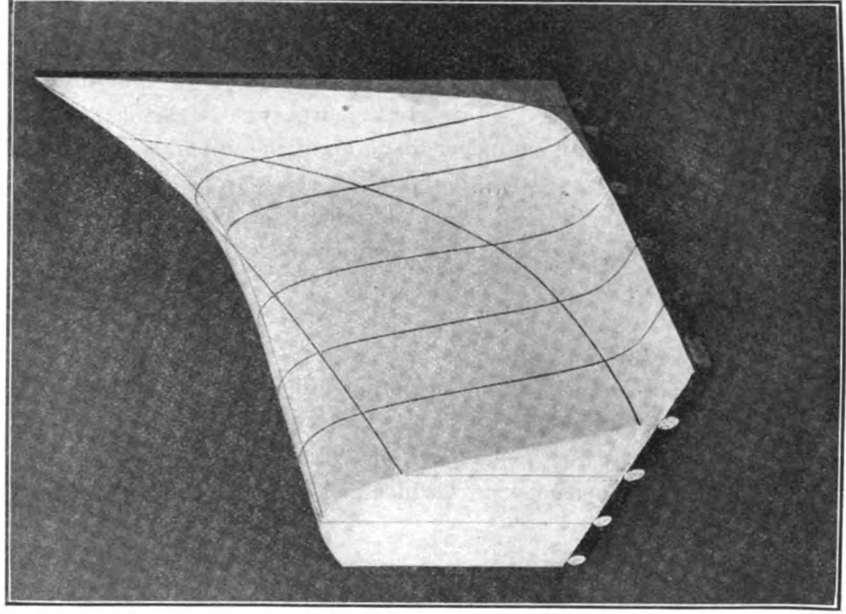
Diese Reaktionskonstanten beschreiben nicht die ganze Enzymtätigkeit, da ja die Enzymmenge wechselt. Die Reaktionsgeschwindigkeit in jedem Augenblick ist das Produkt aus Enzymmenge (Tabelle III) und Reaktionskonstante (Tabelle V). Das Resultat zeigt die Tabelle VI und die Fig. 3a und 3b.

Tabelle VI.

Geschwindigkeit der Enzymwirkung zu verschiedenen Zeiten und Temperaturen.

Zeit	25°	35°	45°	45°	65°	75°
0 Std.	0,144	0,181	0,227	**0,279**	**0,339**	0 Min. . . . **0,408**
0,5 „	0,144	0,180	**0,215**	0,193	0,036	1 „ . . . 0,272
1 „	0,144	0,178	**0,204**	0,133	0,004	2 „ . . . 0,183
2 „	0,144	0,176	**0,183**	0,064	0	5 „ . . . 0,054
3 „	0,143	**0,173**	0,164	0,031	0	10 „ . . . 0,007
4 „	0,143	**0,171**	0,147	0,015	0	20 „ . . . 0,000
5 „	0,142	**0,168**	0,132	0,007	0	
10 „	0,141	**0,157**	0,077	0	0	
20 „	**0,139**	0,137	0,026	0	0	
30 „	**0,137**	0,119	0,009	0	0	
40 „	**0,135**	0,103	0,003	0	0	
50 „	**0,132**	0,088	0,001	0	0	

Durch die Multiplikation dieser Reihen, von denen die eine mit der Temperatur zunimmt, die andere abnimmt, ergibt sich bei hohen Temperaturen eine anfangs sehr große Reaktionsgeschwindigkeit, die wegen vollständiger Zerstörung des Enzyms in wenigen Augenblicken auf Null sinkt (siehe die rechte Profillinie, Fig. 3b). Bei tiefen Temperaturen bleibt die anfangs nicht so große Geschwindigkeit fast gleich und übertrifft daher



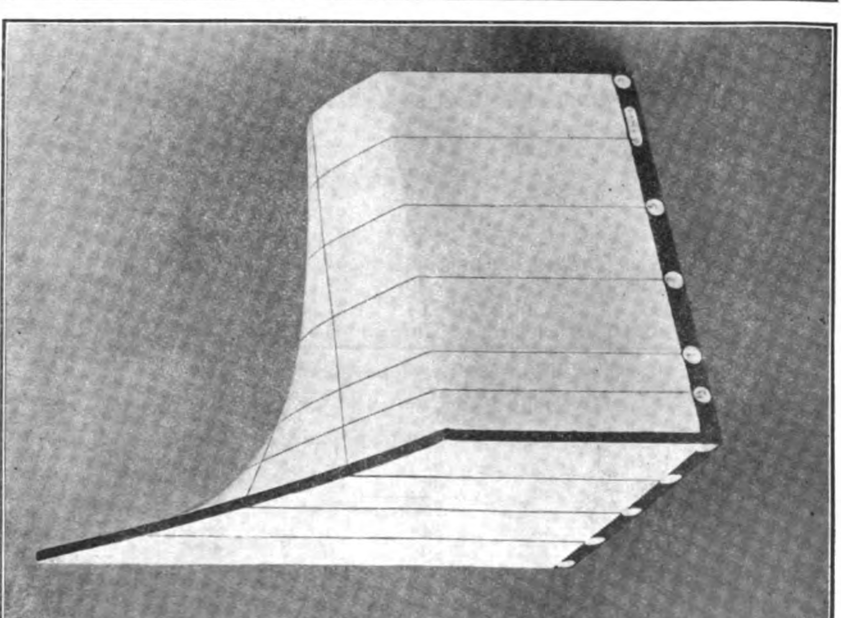


Fig. 3a. Fig. 3b.
Die Reaktionsgeschwindigkeit des enzymatischen Prozesses als Funktion von Temperatur und Zeit.

bald die anfangs größeren. Die größte Geschwindigkeit ist an keine bestimmte Temperatur gebunden, sondern ändert sich

mit der Zeit; bei Beginn des Versuchs zeigt die höchste Temperatur die schnellste Umsetzung, bei Schluß die tiefste. Eine Optimaltemperatur existiert nicht. Die Höchstwerte für jede Versuchszeit sind in der Tabelle fett gedruckt, so daß die Verschiebung des Optimums nach links deutlich erkennbar wird. In Fig. 3b ist die Optimallinie schwach sichtbar.

Aus Gleichung 4 kann man, da alle Konstanten bekannt sind, die zu jeder Zeit bei jeder Temperatur zersetzte Salicinmenge y berechnen.

$$y = b \left[1 - e^{\frac{K'' Q''}{K' Q'} M \left(1 - e^{-K' Q' t}\right)} \right].$$

In Tabelle VII ist diese Berechnung durchgeführt und mit den tatsächlichen Zahlen von Tammann verglichen. Die Übereinstimmung ist zufriedenstellend, bis auf die Werte bei 65°, aus den bereits angegebenen Gründen.

Tabelle VII.

Die umgesetzten Salicinmengen, in Prozenten der Anfangskonzentration.

Zeit	25°	35°	45°	55°	65°	75°
0,5 Std.	6,91	8,89	10,46	**14,30**	6,35	0,0002
1 "	13,41	16,45	**21,18**	17,92	7,22	0,0002
2 "	25,02	30,01	**33,49**	25,31	7,29	0,0002
3 "	35,08	41,22	**44,01**	28,62	7,29	0,0002
4 "	43,79	50,51	**53,18**	30,15	7,29	0,0002
5 "	51,33	**59,34**	58,39	30,86	7,29	0,0002
10 "	75,88	**81,48**	75,00	31,52	7,29	0,0002
20 "	94,08	**95,72**	84,40	31,52	7,29	0,0002
30 "	98,50	**98,81**	86,70	31,52	7,29	0,0002
40 "	**99,99**	99,75	87,40	31,52	7,29	0,0002
50 "	**99,99**	99,98	87,64	31,52	7,29	0,0002
∞ "	**100,00**	100,00	87,76	31,52	7,29	0,0002
Von Tammann gefundene Werte:						
1 Std.	13	—	**18**	—	11	—
3 "	32	—	**51**	—	16	—
5 "	58	—	**61**	—	19	—
8 "	**65**	—	**68**	—	21	—
12 "	**76**	—	73	—	23	—
26 "	**91**	—	84	—	28	—
50 "	**98**	—	89	—	30	—
74 "	**99**	—	92	—	31	—

Die Höchstwerte verschieben sich hier natürlich wie bei der Reaktionsgeschwindigkeit im Laufe der Zeit von der höchsten Temperatur bis zur niedrigsten. In der Tabelle sind

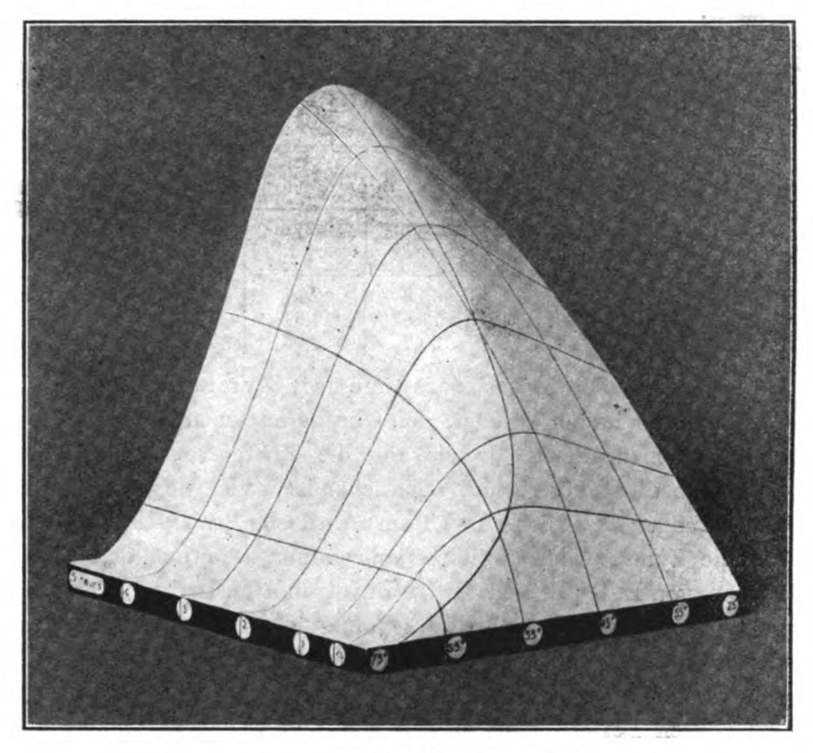


Fig. 4.
Die umgesetzte Substratmenge als Funktion von Temperatur und Zeit.

die Höchstwerte für jede Versuchszeit fettgedruckt. In Fig. 4, welche die ersten 5 Stunden des Versuchs darstellt, ist die Optimaltemperatur durch eine Linie bezeichnet, die sich der niedrigsten Temperatur immer mehr nähert. Bei 75° (linke Seite des Modells) ist keine merkliche Umsetzung zu verzeichnen; bei 65° kommt der plötzliche, steile Anstieg schnell zum Stillstand, nach 1 Stunde ist keine wesentliche Zunahme zu verzeichnen. Bei 55° ist der Anstieg weniger steil, aber länger andauernd, und so fort.

Die Verschiebung der „Optimaltemperatur“ bei Enzymvorgängen ist also dadurch bewirkt, daß die Enzymmenge während des Versuchs abnimmt, und zwar ist dies Bild nur dann gegeben, wenn der Temperaturkoeffizient der Enzymzerstörung größer ist als derjenige der Enzymtätigkeit. Andernfalls würden wir eine vollständigere Zersetzung bei höherer

Temperatur erhalten. Die Temperaturkoeffizienten waren hier 6,36 und 1,26. Arrhenius gibt noch einige Werte für andere Enzyme.

Tabelle VIII.
Temperaturkoeffizienten der Enzymwirkung und Enzymzerstörung.

	Temperaturkoeffizient für 40 bis 50°		A′	A″
	Enzym-zerfall	Enzym-wirkung	Zerfall	Wirkung
Lab	65,8	2,61	90000	20650
Trypsin	17,8	1,61	62030	10570
Pepsin	33,7	2,06	75600	15570

b) Buchners Versuche mit Zymase.

Man ist immer geneigt, den Gärungsenzymen eine Sonderstellung einzuräumen, da sie für die Energieversorgung der Zelle unbedingt nötig sind, auch chemisch viel tiefgreifendere Umsetzungen bewirken. Das Tammannsche Prinzip ist jedoch auf die Zymase ohne weiteres anwendbar, wie aus den Versuchen von E. Buchner, H. Buchner und M. Hahn[1]) hervorgeht. Die mathematische Berechnung ist nicht durchgeführt, doch zeigt ein Blick auf Tabelle IX, daß hier das Tammannsche Prinzip vorliegt. Die Höchstwerte für jede Versuchszeit sind durch Fettdruck hervorgehoben und zeigen dieselbe Verschiebung der Optimaltemperatur wie bei den Emulsinversuchen.

Tabelle IX.
Einfluß der Temperatur auf die Zymasegärung.
(Gesamte Kohlensäurebildung in Gramm.)

Zeit	5—7°	12—14°	22°	28—30°	35—37°
1 Tag	0,09	0,25	0,56	**0,71**	0,53
2 Tage	0,18	0,49	**0,93**	0,76	0,57
3 „	0,26	0,70	**1,03**	0,80	0,58
4 „	0,31	0,85	**1,06**	0,82	0,60
6 „	0,49	**1,11**	—	0,86	0,64
8 „	0,62	**1,20**	—	0,88	0,64
10 „	0,75	**1,22**	—	—	—
14 „	0,91	—	—	—	—
16 „	0,97	—	—	—	—
1 Tag	0,06	0,21	0,41	**0,44**	0,34
2 Tage	0,13	0,42	**0,59**	0,47	0,35
3 „	0,19	0,57	**0,62**	0,47	0,36
4 „	0,29	**0,65**	0,63	0,49	0,37
6 „	0,39	**0,71**	0,63	0,49	0,39
8 „	0,48	—	—	—	—
10 „	0,58	—	—	—	—

[1]) „Die Zymasegärung", S. 146 bis 150.

Diese Tatsache berechtigt zu der Frage: Gibt es denn bei der Gärung durch lebende Hefezellen auch keine wirkliche Optimaltemperatur? Verschiebt sich auch bei lebender Hefe die stärkste Gärtätigkeit mehr und mehr nach den tiefsten Temperaturen? Unsere Erfahrungen sprechen dagegen, und im folgenden Kapitel wird versucht werden, die Tatsachen mit dem Tammannschen Prinzip in Einklang zu bringen.

Zusammenfassung.

1. Enzyme in Lösung sind unbeständig. Die Zersetzungsgeschwindigkeit hat einen sehr hohen Temperaturkoeffizienten. Die Zersetzung wird nicht durch die Enzymtätigkeit verursacht, im Gegenteil wird das Enzym durch das Substrat geschützt.

2. Die Wirkung des Enzyms auf das Substrat hat einen normalen Temperaturkoeffizienten. Die gleiche Enzymmenge verursacht bei höherer Temperatur eine schnellere Umsetzung, doch bleibt die Reaktionsgeschwindigkeit nicht konstant, da sich die Enzymmenge verringert.

3. Mit steigender Temperatur wirken sich zwei Prozesse entgegen: die Enzymtätigkeit wird vermehrt, aber auch der Enzymzerfall nimmt zu, und zwar schneller als die Enzymwirkung. Daraus ergibt sich bei hoher Temperatur eine große Reaktionsgeschwindigkeit, die in wenigen Minuten oder Sekunden wegen vollständiger Zerstörung des Enzyms auf Null sinkt, bei niederen Temperaturen eine kleine Anfangsgeschwindigkeit, die sich nur wenig verringert.

4. Eine konstante „Optimaltemperatur“ der Enzymwirkung gibt es nicht; die Optimaltemperatur verringert sich mit der Zeit und nähert sich asymptotisch der tiefsten Temperatur.

5. Enzymreaktionen sind unvollständige Prozesse; bei tiefen Temperaturen können sie so gut wie vollständig werden. Der Endpunkt der enzymatischen Umsetzung sinkt mit steigender Temperatur.

6. Der Temperaturkoeffizient der Enzymzerstörung muß größer sein als derjenige der Enzymwirkung.

3. Der Einfluß der Temperatur auf die Gärung.

a) Unterschied der Enzyme innerhalb und außerhalb der Zelle.

Gärung wird nach allgemeiner Ansicht durch Endoenzyme hervorgerufen; dieselben sind sehr empfindlich und zersetzen sich sehr schnell außerhalb der Zelle. Man erklärt dies gewöhnlich durch die Endotryptase, die in der Zelle von der Zymase räumlich getrennt sein soll, im Preßsaft aber die Zymase verdaut. Die Annahme hat ihre schwachen Seiten. Auch innerhalb der lebenden Zelle zersetzt sich die Zymase, wenn man 50 % Glycerin zusetzt[1]). In stickstofffreier Zuckerlösung kommt die Gärung bald zum Stillstand. Die Zellen unter abnormen Verhältnissen gleichen der isolierten Zymase. Der Verfasser ist der Ansicht, daß dies stets dann der Fall ist, wenn die Zellen keine neue Zymase bilden können.

Daß die Hefezellen Zymase bilden können, ist selbstverständlich. Daß auch alte Zellen Zymase bilden, und zwar ziemlich schnell, zeigen die Versuche von Buchner und Hahn[2]) über die Regeneration der Hefe. Dem Verfasser scheint daher die Annahme ganz berechtigt, daß die Zymase sich innerhalb und außerhalb der Zelle gleich schnell zersetzt, sei es durch Endotryptase oder sonstwie, daß aber in der normalen lebenden Zelle das Enzym ebenso schnell neugebildet wird, wie es zerfällt. Auf dieser Annahme beruht die gesamte weitere Ausführung.

Diese Annahme erklärt die Schwierigkeiten bei der Abtrennung der Gärungsenzyme. Große Mengen von Bakterien sind schwer zu erhalten; die vom Nährboden getrennten Bakterien hungern, haben also keine Möglichkeit, das dauernd zerfallende Enzym zu ersetzen. Der größte Teil des Enzyms zerfällt natürlich in den ersten Stunden, wir können also nicht erwarten, daß die von dem isolierten Enzym umgesetzte Substratmenge ebenso groß ist wie bei einer entsprechenden Anzahl lebender Zellen. Kuhtz fand, daß 1000000000 Zellen von Bact. coli nur bei Stickstoffnahrung Gas bilden, und schließt daraus, daß die Gärung nicht ein Enzymprozeß, sondern ein

[1]) Buchner und Hahn, S. 173.
[2]) l. c. S. 275 bis 279.

streng vitaler Vorgang sein müsse. Man kann aber wohl verstehen, daß beim Isolieren und Waschen dieser Zellen soviel Gärenzym verloren ging, daß keine sichtbaren Gasmengen entwickelt wurden.

Der Befund Rubners, daß Hefe in stickstofffreier Nährlösung 32 bis 50% des Stickstoffgehalts in 48 Stunden verlor, spricht ebenfalls für die obige Annahme. Man darf wohl annehmen, daß ein Teil davon aus der Zymase stammte, denn die Gärung hörte auf. Man darf wohl auch annehmen, daß ein Teil des Katabolismus aller Zellen, pflanzlicher wie tierischer, vom Zerfall von Enzymen und ähnlichen unbeständigen Stoffen herrührt, die die Zelle ebenso schnell wieder neu bildet als sie zerfallen. Wir wissen, daß alle Enzyme unbeständig sind, wir wissen auch, daß der Katabolismus von der Nahrung ziemlich unabhängig ist.

b) Der Einfluß der Temperatur auf die Gärung durch lebende Hefe.

Der Einfluß der Temperatur auf die Gärung durch lebende Hefe ist ziemlich kompliziert. Das Endergebnis wird wesentlich davon abhängen, ob die Enzymneubildung mit dem Enzymzerfall Schritt halten kann. Solange das der Fall ist, wird die Gärungsgeschwindigkeit dem van t'Hoffschen Gesetz folgen, denn die Enzymkonzentration bleibt konstant. Bei hohen Temperaturen wird aber der Enzymzerfall wegen des großen Temperaturkoeffizienten derartig schnell vor sich gehen, daß die Enzymbildung nicht mehr den Ausfall decken kann. Die Enzymmenge nimmt mehr und mehr ab, und wir erhalten Umsatzgeschwindigkeiten, die im großen und ganzen dem Tammannschen Prinzip entsprechen: große Geschwindigkeit zu Anfang, die aber bald auf Null sinkt. Bei mittleren Temperaturen ist dagegen die Enzymmenge stets die gleiche, die Gärungsgeschwindigkeit ist also von der Zeit unabhängig; daraus ergibt sich das Bestehen einer wirklichen konstanten Optimaltemperatur, bei der die Zelle das Enzym gerade noch ebenso schnell neubilden kann als es zerfällt. Unterhalb der Optimaltemperatur haben wir konstante Gärgeschwindigkeit, oberhalb der Optimaltemperatur haben wir für kurze Zeit

schnellere Gärung, die aber bald sich verringert und auf Null sinkt.

Unglücklicherweise läßt sich dies experimentell nicht einwandfrei nachweisen. Die Gärprodukte im ersten Wachstumsstadium sind unmeßbar klein, und sobald sie meßbar werden, häufen sie sich derartig schnell an, daß bald Hemmungen entstehen, die den Verlauf der Gärung beeinträchtigen. Außerdem ist die Korrektur für den Zuwachs an lebenden Zellen ungenau.

Der Einfluß der Temperatur ist hier auf die denkbar einfachste Weise dargestellt worden. Vermutlich ist er viel komplizierter. Die Enzymneubildung hat jedenfalls auch einen Temperaturkoeffizienten, wahrscheinlich ist das enzymbildende Agens ebenfalls thermolabil. Hieran soll in einer besonderen Arbeit später noch angeknüpft werden; für das hier zu erörternde Prinzip ist dies belanglos.

4. Einfluß der Temperatur auf das Wachstum.

a) Blackmans Theorie und die Kritik.

Blackman hat das Tammannsche Prinzip auf die Daten von Matthaei über die Kohlensäureassimilation der Pflanzen angewendet. Bei diesen Versuchen wurde ein Blatt in eine mit einem Kohlensäuregemisch durchspülte Glaszelle getan, die einer konstanten Lichtquelle ausgesetzt war. Stündlich wurde die Kohlensäureabnahme bestimmt. Die so erhaltenen Daten zeigen deutlich das Tammannsche Prinzip.

Tabelle X.

Assimilationsgeschwindigkeit der Blätter für Kohlensäure.
(CO_2 in Milligramm für 50 qcm Blattoberfläche und Stunde.)

Zeit	15°	23,7°	30,5°	37,5°	40,5°
0 bis 1½ Std. . .	?	?	?	?	?
1½ „ 2½ „ . .	7,2	8,8	15,7	**23,7**	**14,7**
2½ „ 3½ „ . .	6,7	10,6	14,0	**17,6**	10,8
3½ „ 4½ „ . .	7,2	11,0	12,9	**13,9**	9,8
4½ „ 5½ „ . .	6,8	10,1	**12,0**	10,9	4,8

Bei hoher Temperatur ist der schnelle Abfall der Assimilation, bei tiefer Temperatur der ziemlich konstante Verlauf charakteristisch. Die Verschiebung des Optimums nach links

ist in der Tabelle wenig merklich, weil die für die hohen Temperaturen wichtigsten Bestimmungen in den ersten Minuten des Versuchs nicht ausgeführt werden konnten.

Die Kritiker haben sich mit Recht geweigert, diese Ausführungen als maßgebend für das Pflanzenwachstum im allgemeinen anzusehen. Danach müßte ja das beste und vollständigste Pflanzenwachstum bei der tiefsten Temperatur stattfinden, und jeder Laie weiß, daß das nicht der Fall ist. Die Tatsachen sprechen also gegen eine Verallgemeinerung von Blackmans Versuchen, andererseits scheinen die Versuche einwandfrei. Es ist aber gar nicht schwierig, die scheinbaren Widersprüche in Einklang zu bringen. Bei den Blackmanschen Versuchen handelt es sich um Blätter, die von dem Baum losgelöst waren. Es ist wohl verständlich, daß solche Blätter bei tiefen Temperaturen länger am Leben bleiben und assimilieren als bei hohen Temperaturen. Man kann von der Ernährung eines isolierten überlebenden Pflanzenteils nicht auf die Ernährung der ganzen lebenden Pflanze schließen.

b) Eine Vermittelungstheorie.

Wir können hier dieselbe Annahme machen wie bei der Gärung: Wachstum wird verursacht durch ein gewisses Agens, das thermolabil ist, also auch bei niederen Temperaturen langsam zerfällt, aber von der Zelle stets wieder erneuert wird. Bei der normalen Pflanze merkt man also die Unbeständigkeit des wachstumbewirkenden Agens gar nicht; nur bei anormalen Bedingungen, wenn der Ersatz ausbleibt, wird die Unbeständigkeit offenbar.

Die Annahme ist gar nicht so ungewöhnlich wie sie im ersten Augenblick zu sein scheint. Es kann nicht geleugnet werden, daß irgendetwas in der Pflanze, ein Agens, die Synthesen hervorbringt. Die unzähligen fruchtlosen Versuche, das Wachstum außerhalb der Zelle nachzuahmen, dürften für die Unbeständigkeit des Agens ein genügender Beweis sein. Auch der Umstand, daß eine durch Hitze getötete Pflanze nicht wächst, läßt den Schluß zu, daß das wachstumsbewirkende Agens durch Hitze zerstört wird. Wenn dieser Stoff sich bei 60 bis 70° schnell zersetzt, müssen wir annehmen, daß auch bei 20° noch Zerfall stattfindet, wenn auch langsamer. Da

aber die Pflanzen bei dieser Temperatur gut weiterwachsen, so muß in der Zelle für Ersatz des zerfallenden Agens gesorgt sein. Thermolabilität und dauernder Ersatz sind die einzigen für diese Theorie notwendigen Eigenschaften des Agens, für das ein besonderer, gelehrt klingender Name unnötig ist. Es steht auch in jedermanns Belieben, sich statt des einen Agens Hunderte von verschiedenen Agenzien zu denken, für jede Einzelsynthese ein besonderes. Das ist sogar das Wahrscheinlichere, man denke nur an die Umkehrbarkeit der Enzyme und die Reduktasen.

Der Einfluß der Temperatur auf das Wachstum ist dadurch ganz analog dem Einfluß auf die Gärung. Bei tiefen und mittleren Temperaturen ist die Wachstumsgeschwindigkeit konstant, weil die Menge des wachstumbewirkenden Agens konstant ist. Die Optimaltemperatur ist diejenige höchste Temperatur, bei der die Erneuerung des Agens gerade noch genügt, um den Zerfall zu ersetzen. Bei noch höheren Temperaturen ist die Wachstumsgeschwindigkeit nicht mehr konstant, da die Menge des wachstumbewirkenden Agens abnimmt. Die anfänglich große Geschwindigkeit sinkt schnell und bleibt entweder ganz gering, wenn das Agens noch zum Teil ersetzt werden kann, oder hört vollständig auf. Oberhalb der Optimaltemperatur tritt also das Tammannsche Prinzip hervor.

c) Die Versuche von Marshall Ward.

Einen sehr schönen Beweis zu diesen Annahmen liefern die sehr ausführlichen Messungen von M. Ward über die Wachstumsgeschwindigkeit von B. ramosus bei verschiedenen Temperaturen. Bakterien eignen sich zu diesen Versuchen ganz besonders, da sie wegen ihres geringen Körpervolumens im Augenblick die Versuchstemperatur annehmen und schon nach wenigen Minuten Messungen erlauben. Größere Organismen (z. B. die Blätter bei Matthaei-Blackman) brauchen so lange Zeit zum Durchwärmen, daß die wichtigsten Messungen fortfallen müssen. Ward faßt die Ergebnisse seiner Messungen folgendermaßen zusammen:

S. 462: „Bei der Optimumtemperatur ist das Wachstum sehr schnell und dauert lange an, und der Organismus benutzt die Nahrung zu größtem Effekt und bildet daraus eine maximale Ausbeute an Körper-

substanz, in andern Worten: die größte ‚Ernte'. Bei Temperaturen über dem Optimum dauert das Wachstum, obschon es anfangs ebenso schnell ist wie beim Optimum, nicht so lange an; die Wachstumsperiode wird kürzer und kürzer, je weiter die Temperatur sich vom Optimum entfernt. Die Ernte von derselben Nahrungsmenge wird kleiner und kleiner, wenn die Temperatur höher und höher steigt. Schließlich wird ein Punkt erreicht, wo gar kein Wachstum mehr stattfindet. Diese Temperatur ist über 39° und ist die Tötungstemperatur."

S. 459: „Die Maximaltemperatur ist daher kein bestimmter Punkt, bis wir 39 bis 40° erreichen, worüber hinaus kein Wachstum möglich erscheint, sondern sie variiert je nach der Zeitdauer, während welcher der Organismus der hohen Temperatur ausgesetzt war. So findet man häufig, daß die erste Teilung selbst bei 35 bis 36° sich in der Minimalzeit, etwa 30 Minuten, vollzieht; die zweite Teilung desselben Fadens dauert schon länger, die dritte wird schon fast die doppelte Zeit beanspruchen usw., wie man aus den Kurven vom 9. November ersieht."

Man sieht aus diesen Zusammenfassungen recht deutlich, daß das Wachstum oberhalb der Optimumtemperatur der Enzymwirkung gleicht, und daß hier das Tammannsche Prinzip regiert.

d) Zusammenfassung.

1. Die Gärungsenzyme zerfallen innerhalb der Zelle ebenso schnell wie außerhalb.

2. Die lebende Zelle bildet unter normalen Lebensbedingungen dauernd neues Enzym in genügenden Mengen, um den Verlust durch Enzymzerfall zu ersetzen. Die normale lebende Zelle arbeitet daher mit einer konstanten Enzymmenge, und die Gärungsgeschwindigkeit ist konstant.

3. Da der Temperaturkoeffizient des Enzymzerfalls sehr groß ist, kommt bei steigender Temperatur bald ein Punkt, wo die Enzymbildung den Zerfall nicht mehr ersetzen kann. Die Enzymmenge nimmt dauernd ab; infolgedessen wird auch die Gärungsgeschwindigkeit, die anfänglich sehr groß ist, allmählich auf Null herabsinken. Je höher die Temperatur, um so schneller tritt dies ein.

4. Bei der Gärung durch lebende Zellen gibt es eine richtige konstante Optimaltemperatur, es ist die höchste Temperatur, bei der die Enzymbildung mit dem Enzymzerfall noch Schritt hält.

5. Genau dieselben Ausführungen gelten für das Wachstum. Wir nehmen ein Wachstum bewirkendes Agens an, das ebenso

unbeständig ist wie ein Enzym und von der Zelle dauernd neu ersetzt wird. Auf diese Weise ergibt sich, in Analogie zur Gärung, das Bestehen einer konstanten Optimumtemperatur des Wachstums und des Tammannschen Prinzips oberhalb dieser Temperatur.

5. Der Einfluß der Gifte auf Lebensvorgänge.

a) Einfluß der Gifte auf Enzyme.

In der physiologischen Literatur findet man häufig Hinweise auf die Ähnlichkeit der Wirkung von Temperatur und Gift. Die folgenden Seiten bringen also keinen neuen Grundgedanken, sondern sie zeigen nur die Möglichkeit der Anwendung des Tammannschen Prinzips, die allerdings unerwartet weit geht und ganz neue Ausblicke auf die Reizwirkung aller Gifte und die eigentliche Ursache der Vergiftungen gibt.

Wir müssen hierzu das Gift als Katalysator auffassen, ebenfalls im Prinzip nichts Neues. Bleiben wir zunächst wieder beim einfachen Enzymvorgang. Das Gift beschleunigt sowohl die Enzymwirkung wie den Enzymzerfall. Der Zerfall kann für sich behandelt werden. Ist M die Enzymmenge, x das in der Zeit t zerstörte Enzym, so ist

$$-\frac{dx}{dt} = K'(M - x).$$

Dieser Zerfall wird durch das Gift beschleunigt, und zwar dürfen wir, wie bei vielen Katalysen, annehmen, daß die Beschleunigung proportional der n'ten Potenz der Konzentration ist. Der Enzymzerfall unter Giftzusatz verläuft also nach der Gleichung:

$$-\frac{dx}{dt} = K' c^{n'} (M - x).$$

Wir integrieren

$$\ln \frac{M}{M - x} = K' c^{n'} t$$

und erhalten daraus die zu jeder beliebigen Zeit vorhandene Enzymmenge, die wir mit E bezeichnen wollen

$$E = M - x = M e^{-K' c^{n'} t}.$$

Das Gift beschleunigt nicht nur den Enzymzerfall, sondern auch die Enzymwirkung. Als Beispiel wählen wir die beim Emulsin benutzte Gleichung

$$-\frac{dy}{dt} = K'' E (b - y),$$

bei der b die einfache Substratmenge, y die in der Zeit t umgesetzte Substratmenge bedeutet. Die Beschleunigung ist wiederum proportional einer Exponentialfunktion der Konzentration, sehr wahrscheinlich ist der Exponent von dem des Enzymzerfalls verschieden; wir nennen ihn n''. Die beschleunigte Enzymwirkung folgt dann der Gleichung

$$-\frac{dy}{dt} = K'' E c^{n''} (b - y).$$

Wir setzen den obigen Wert für E ein

$$-\frac{dy}{dt} = K'' c^{n''} (b - y) M e^{-K' c^{n'} t}.$$

Die Integration ergibt

$$-\ln (b - y) = -\frac{K'' c^{n''} M e^{-K' t c^{n'}}}{K' c^{n'}} + C.$$

Bei $t = 0$ wird auch $y = 0$

$$-\ln b = -\frac{K'' c^{n''} M}{K' c^{n'}} + C.$$

Die Integrationskonstante wird durch Subtraktion der letzten Gleichung von der vorletzten eliminiert.

$$\ln \frac{b}{b - y} = \frac{K'' c^{n''}}{K' c^{n'}} M \left(1 - e^{-K' t c^{n'}}\right).$$

Diese Gleichung entspricht genau der Gl. 4 über den Einfluß der Temperatur auf Enzyme. Was dort Q' und Q'' war, ist hier $c^{n'}$ und $c^{n''}$. Die katalytische Theorie der Giftwirkung auf Enzyme ergibt also das Tammannsche Prinzip. Die Enzymwirkung wird beschleunigt, bei schwachen Giftdosen ist die Beschleunigung gering, aber anhaltend, da das Enzym wenig geschädigt wird. Bei starken Dosen ist die augenblickliche Reizung sehr groß, aber mit einem derartig starken Enzymzerfall verknüpft, daß nach dem ersten Aufflackern der Enzymtätigkeit vollständiger Stillstand wegen Vernichtung des Enzyms eintritt. Bei stärksten Dosen geht die Zerstörung so plötzlich

vor sich, daß von einer Enzymwirkung überhaupt nicht die Rede sein kann. Es gibt also keine Optimaldosis für Reizwirkungen bei Enzymen, die stärkste Reizwirkung verschiebt sich vielmehr mit der Zeit nach der unendlich kleinen Dosis.

Ein Beispiel für das Tammannsche Prinzip bei Giftwirkungen geben Buchner und Hahn in drei Versuchen über den Einfluß von Arsenik auf die Zymasewirkung.

Tabelle XI.

Einfluß von Arsenik auf die Zymasegärung.
(Gesamt-Kohlensäurebildung in Gramm.)

Arsengehalt	16 Stunden	24 Stunden	40 Stunden	64 Stunden
0%	0,50	0,73	**1,15**	**1,73**
2%	**0,89**	**0,95**	0,99	1,01
0%	0,16	0,24	**0,42**	**0,73**
2%	**0,35**	**0,37**	0,38	0,41
0%	0,16	0,24	**0,42**	**0,73**
2%	**0,35**	**0,37**	0,38	0,40

Auch die Versuche von Sörensen über den Einfluß der Wasserstoffionen auf die Invertasewirkung darf man wohl hierher rechnen. Sörensen selbst setzt die erste Ziffer des letzten Stabes, 0,0663, in Klammern, da er seine Genauigkeit bezweifelt; für diese Erörterungen erscheint er richtig. Auch in Sörensens Versuchen mit Katalase und Pepsin ist eine Verschiebung des Optimums nach der schwächeren Konzentration hin zu merken.

Tabelle XII.

Einfluß der Acidität auf die Invertasewirkung.
(Rotationsänderung im Verhältnis zur Anfangsrotation.)

Wasserstoffionenkonzentration	$10^{-6,68}$	$10^{-6,30}$	$10^{-4,80}$	$10^{-4,40}$	$10^{-3,92}$	$10^{-3,68}$
4 Minuten	0,0297	0,0355	0,0486	0,0629	0,0621	**(0,0663)**
17 „	0,2911	0,3039	0,3992	**0,4048**	0,3958	0,2241
32 „	0,5038	0,5322	**0,6598**	0,6518	0,6098	0,3225
47 „	0,6618	0,7013	**0,8244**	0,8051	0,7524	0,3808
62 „	0,7816	0,8208	**0,9073**	0,8954	0,8445	0,4186
92 „	0,9208	0,9355	**0,9796**	0,9583	0,9445	0,4769
122 „	0,9838	0,9733	**0,9914**	0,9675	0,9768	0,5158

Da die Werte $c^{n'}$ und $c^{n''}$ den Temperaturkoeffizienten Q' und Q'' entsprechen, so wird, da Q' größer war als Q'', n' größer sein müssen als n'', der Enzymzerfall wird stärker beschleunigt als die Wirkung. Andernfalls würde mit steigender Konzentration des Gifts eine zunehmende Enzymwirkung eintreten, die auch bei beliebig langer Versuchsdauer den schwächeren Giftdosen und der giftfreien Lösung überlegen bliebe. Solche Stoffe mag es vielleicht geben, man würde sie aber niemals Gifte nennen, da von einer Schädigung ja nichts zu merken wäre. Die Beschleunigung der Zymasewirkung durch Phosphate nach Harden gehört wohl nicht hierher, da die Phosphate ein unbedingt notwendiger Faktor bei der Gärung zu sein scheinen. Das andere mögliche Extrem wäre der Fall, daß $n'' = 0$ wird, daß also nur der Enzymzerfall, nicht aber die Enzymtätigkeit beschleunigt wird. Dies wären also Gifte, die nicht reizen; die Existenz solcher Gifte ist gelegentlich behauptet worden, im großen und ganzen darf man aber wohl sagen, daß fast alle Gifte in kleinen Dosen als Reizmittel wirken.

b) Beschleunigung und Verzögerung der Gärung.

Bei der Gärung durch lebende Zellen wird das zerfallene Enzym durch die Zelle ersetzt. Reizt man die Zelle durch Gifte, so wird die Gärung sowohl wie der Enzymzerfall beschleunigt. Ist die Reizung gering, so kann die Zelle das Enzym noch schnell genug ersetzen, die beschleunigte Gärung wird also durch eine konstante Enzymmenge bewirkt. Es muß demnach möglich sein, dauernd beschleunigte Gärung ohne Schädigung der Zelle zu erzielen, und es besteht eine optimale, konstante Reizdosis. Wird diese überschritten, so kann die Zelle den verstärkten Enzymverlust nicht mehr gut machen und leidet.

Obschon wegen der technischen Anwendung von Reizmitteln im Gärungsgewerbe eine große Menge Daten vorliegen, kann doch kein einziger Versuch hier als Beleg für diese Theorie angegeben werden, denn die Versuche bringen nur Endausbeuten, die hier nichts beweisen. Der zeitliche Verlauf muß mit genauer Bestimmung der Gärprodukte sowohl wie der aktiven Masse der gärenden Zellen verfolgt werden.

c) Beschleunigung und Verzögerung des Wachstums.

Die Wirkung von Giften auf das Wachstum ergibt sich aus den bisherigen Ausführungen als einfache Analogie. Das wachstumbewirkende Agens wird sowohl in seiner Betätigung wie in seinem Zerfall beschleunigt, und da es unter normalen Verhältnissen wieder ersetzt wird, so kann eine schwache Giftmenge ein dauernd beschleunigtes Wachstum ohne Schädigung bewirken. Es gibt eine konstante optimale Reizkonzentration. Bei stärkeren Dosen erscheint das Tammannsche Prinzip.

Ein hübsches Beispiel hierfür liefert die Studie von Hünne über den Einfluß von Formaldehyd auf das Wachstum von Bact. coli.

Tabelle XIII.

Einfluß von Formaldehyd auf das Wachstum von Bact. coli.
(Anzahl der Bakterienzellen in Kubikzentimeter Nährlösung.)

Zeit	Formaldehyhdkonzentration							
	0	1 : 100 Mill.	1 : 10 Mill.	1 : 3 Mill.	1 : 1 Mill.	1 : 100000	1 : 10000	1 : 3000
1/4 Stde.	9720	9610	9820	10800	**11760**	11340	8100	**210**
3/4 „	6340	6210	14160	**16200**	11340	10260	1280	**0**
2 Stdn.	17300	21260	**55110**	44280	15120	7020	440	**0**
4 „	36400	61300	**129600**	22680	18260	11200	0	**0**
7 „	140000	2054000	**2782000**	2090400	1832800	1555200	0	**0**
11 „	17000000	25480000	**38920000**	18200000	7880000	4776000	0	**0**
20 „	50207000	75210000	**96640000**	48000000	51000000	45680000	0	**0**

Das Tammannsche Prinzip kommt deutlich zur Geltung, ebenso die dauernde Überlegenheit der schwächeren Formaldehydkonzentration gegenüber der giftfreien Kontrolle; diese dauert durch 13 Generationen hindurch, so daß man von einer Schädigung der Zellen durch das Gift nicht sprechen kann. Da die Schädigung des Organismus durch schwache Reizmittel von vielen Laien wie Wissenschaftlern als selbstverständlich angesehen wird, so sei hier nur auf einige Gegenbeispiele hingewiesen. Raulin fand das Wachstum von Aspergillus so durch Zinksalze begünstigt, daß er das Zink als einen notwendigen Nahrungsbestandteil ansah; niemals erwähnt er eine schädigende Wirkung. Im Gärungsgewerbe wird die Beschleunigung der alkoholischen Gärung durch kleine Dosen von Kupfersulfat, Schwefelkohlenstoff und Wasserstoffsuperoxyd empfohlen und wohl auch

im Großbetrieb angewendet. Die Deutsche Landwirtschaftsgesellschaft erwägt ernstlich die allgemeine Anwendung von Reizmitteln im Feldbau; Kupfersalze, Mangansalze und Schwefelkohlenstoff geben unter gewissen Bedingungen überraschend hohe Ernten. Spätere Schädigungen durch die üblichen Reizdosen sind nicht berichtet. Schließlich darf die immer noch fortbestehende Existenz des Menschen nicht unerwähnt bleiben; trotz jahrhundertelanger Reizwirkung durch Kaffee, Tee und Tabak, trotz jahrtausendelanger Reizwirkung durch Alkohol ist der Mensch der Jetztzeit seinen Urahnen körperlich erheblich überlegen. Die Durchschnittsleistungen unserer Athleten, die Marschleistungen der Heere im jetzigen Krieg übertreffen bei weitem das, was die Griechen und Römer vor zweitausend Jahren leisteten.

Die Annahme, daß die Giftwirkung auf Katalyse und nicht auf chemischer Bindung beruhe, wird durch die neueren Fortschritte der Theorie der Desinfektion gestützt. Die Desinfektionsgeschwindigkeit ist von der Anzahl der Bakterien unabhängig. Chick erklärt dies als bimolekulare Reaktion mit einem Reagens, dem Gifte, als Überschuß. Bei einer Reizwirkung des Formaldehyds in Verdünnung 1 : 100 000 000, also in drei Zehnmillionstel normaler Lösung, fällt es schwer, anzunehmen, daß das Gift im Überschuß vorhanden sei und daß trotz chemischer Reaktion mit 10 000 Bakterienzellen keine merkliche Abnahme stattfinde. Die Erklärung durch Katalyse vermeidet diese Voraussetzung.

Ein anderer, etwas fraglicher Punkt der üblichen Reizerklärung durch Gifte findet dadurch ebenfalls eine Lösung. Man pflegt sich den Einfluß von Giften auf das Wachstum so vorzustellen wie es Fig. 5 zeigt: bei ganz schwachen Dosen Reizwirkung, bei starken Dosen Schädigung. Dazwischen sollte es eine Giftdosis P geben, bei der das Wachstum genau so verläuft wie ohne Gift. Diese Dosis ist viel gesucht, aber nicht gefunden worden. Nach der hier gegebenen Erklärung ist dies leicht verständlich. Der Punkt existiert zwar, ist aber eine Funktion der Zeit und verschiebt sich mit fortschreitender Zeit nach den geringeren Giftkonzentrationen; das Tammannsche Prinzip ist die Ursache.

Nach der üblichen Erklärung besteht die Vergiftung in

einer chemischen Verbindung des Giftes mit Zellbestandteilen, die dadurch ihre Funktionsfähigkeit verlieren. Die katalytische Theorie verlangt ein lösliches Gift. Die Giftwirkung hört auf, sobald das Gift chemisch gebunden ist, und die chemische Bindung in der Zelle muß als erster Schritt zur Wiederherstellung der Zelle, ja sogar als deren Vorbedingung angesehen werden.

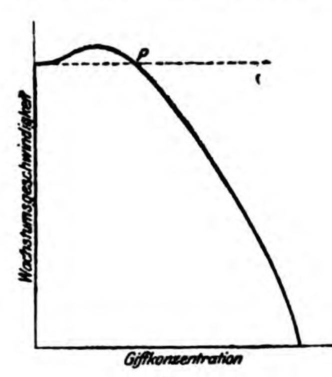


Fig. 5.
Die übliche Ansicht der Beziehungen zwischen Wachstum und Gift.

Es gibt auch einen Punkt, der gegen die hier angegebene Theorie spricht; derselbe genügt wohl nicht, um die Theorie als ungültig zu beweisen, kann aber vorläufig nicht mit ihr in Einklang gebracht werden. Nach der katalytischen Erklärung ist der Tod durch Hitze und durch Gift im Grunde der gleiche chemische Vorgang; nur die Art der Beschleunigung ist verschieden, die Reaktion ist die gleiche. Nach den sehr genauen Untersuchungen über Desinfektion durch Hitze und durch Gift sind aber die Temperaturkoeffizienten dieser Vorgänge ganz verschieden. Die Versuche von Chick und von Paul, Bierstein und Reuß zeigen bei Desinfektion durch Hitze einen sehr hohen Temperaturkoeffizienten, zwischen 11,8 und 136,0 für 10° schwankend, während bei chemischer Desinfektion der Temperaturkoeffizient dem der gewöhnlichen chemischen Reaktionen entspricht. Der Verfasser kann den Widerspruch zurzeit nicht erklären.

Zusammenfassung.

Gifte beschleunigen sowohl Enzymwirkung wie Enzymzerfall, den letzteren mehr als den ersten. Die Folge davon ist, daß die stärkste Enzymtätigkeit mit der Zeit sich von den großen Giftmengen immer mehr zu den kleinsten verschiebt, genau wie es Tammann beim Einfluß der Temperaturen auf Enzyme zeigte.

Bei der Gärung durch lebende Zellen kann der Enzymzerfall wieder ersetzt werden, wenn er nicht zu groß ist. Bei

schwachen Reizwirkungen ist deshalb eine dauernde Beschleunigung ohne Schädigung des Organismus möglich; bei starken Reizen zeigt sich das Tammannsche Prinzip. Genau das gleiche gilt für das Wachstum.

Literatur.

Arrhenius, Immunochemistry. New York, McMillan Co., 1907.
M. A. Barber, Journal of Infectious Diseases, **5**, 379, 1908.
F. F. Blackman, Annales of Botany, **19**, 281, 1905.
E. Buchner, H. Buchner und E. Hahn, Die Zymasegärung, München 1903.
Harriet Chick, Journ. of Hygiene, **10**, 237, 1910.
Harden, Alcoholic Fermentation. Longmans, Green & Co., 1911.
Hünne, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig. **48**, 135, 1909.
E. Kuhtz, Arch. f. Hygiene, **58**, 125, 1906.
G. L. C. Matthaei, Philosophical Transactions, Royal Society, Series B, **197**, 71, 1904.
Paul, Bierstein und Reuß, diese Zeitschr. **29**, 249, 1910.
M. Rubner, Arch. f. Hygiene **19**, 401, 1904.
S. P. L. Sörensen, diese Zeitschr. **21**, 275, 1909.
Tammann, Zeitschr. f. physikal. Chem. **18**, 426, 1895.
M. Ward, Proc. Roy. Soc. **58**, 265, 1895.

Grünfärbung der Frauenmilch nach Genuß von Tierleber.

Von

E. Feer.

(Aus der Universitätskinderklinik in Zürich.)

(Eingegangen am 23. Oktober 1915.)

Seit Jahren ist uns aufgefallen, daß die Milch unserer Ammen, die für andere Säuglinge abgepumpt wird, regelmäßig nach dem Genuß von gebratener Kalbs- und Rindsleber eine deutlich grünliche Färbung bekommt, die schon wenige Stunden nach dem Genuß sich einstellt und nach ca. 16 Stunden verschwunden ist. Am besten erkennt man die grünliche Färbung im Reagensglas oder in einer Kindermilchflasche (weißes Glas!) beim Vergleich mit normaler Milch. Ich habe diese Tatsache nirgends erwähnt gefunden, obwohl sie schon anderwärts beobachtet wurde.

Ohne Zweifel handelt es sich hier um ein Derivat des Gallenfarbstoffes aus der genossenen Leber, bei dem aber die gewöhnlichen Untersuchungen auf Gallenfarbstoff versagen. Wir selbst sind nicht in der Lage, die erforderlichen schwierigen Untersuchungen vorzunehmen und möchten darum Chemiker von Fach für diese Sache hier interessieren.

Über den hemmenden Einfluß des Quarzlampenlichtes auf die Blutgerinnung.

Von

Walther Hausmann und Ernst Mayerhofer.

(Aus der Prosektur und aus der internen Abteilung des k. k. Wilhelminenspitals in Wien.)

(Eingegangen am 1. November 1915.)

Wir kennen die Beeinflussung einer großen Reihe biologischer Vorgänge durch ultraviolette Strahlen. Es erschien nun wünschenswert, auch die Wirkung einer derartigen Bestrahlung auf die Gerinnung des Blutes zu untersuchen, insbesondere mit Hinblick auf einige klinische Beobachtungen nach Quarzlampenbestrahlungen, die vielleicht mit einer Wirkung des Lichtes auf den Gerinnungsvorgang zusammenhängen könnten. Über diese Beobachtungen wird am Schlusse dieser Mitteilung berichtet.

Von vornherein ließ sich nicht übersehen, ob durch ultraviolettes Licht eine Beschleunigung der Gerinnung herbeigeführt werden würde, oder ob eine Hemmung zu erwarten wäre. Die Arbeiten von Dreyer und Hansen[1]), Chalupetzky[2]) und neuerdings von Schanz[3]) über die eiweißkoagulierende Wirkung derartiger Strahlen würden vielleicht an eine Beschleunigung des Gerinnungsvorganges denken lassen. Andererseits könnte auch die Möglichkeit einer Gerinnungshemmung vermutet werden, da Dreyer und Hansen (l. c.) berichten, daß Fibrinogenlösungen beim Bestrahlen klar blieben, ihre Gerinnungsfähigkeit aber bei nachheriger Erwärmung herabgesetzt erschien[4]).

Nach unseren Versuchen ergab nun die Bestrahlung von Kochsalzplasma und von Oxalatplasma, die wir mit einer Quarz-

---

[1]) Compt. rend. **145**, 1907.

[2]) Wiener klin. Wochenschr. **1913**, Nr. 31 und 32.

[3]) Arch. f. d. ges. Physiol. **161**, 384, 1915.

[4]) Vgl. P. Linser und E. Helber, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **83**, 478, 1905, sowie v. d. Velden, ebenda **108**, 377, 1912.

Quecksilberlampe (Heräus) ausführten, bei dem Blute verschiedener Tierarten eine regelmäßige Aufhebung oder starke Hemmung der Gerinnung bei nachträglichem Zusatze von destilliertem Wasser, resp. von Calciumchloridlösung. Wir sind deshalb berechtigt, mindestens von einem hemmenden Einfluß der ultravioletten Strahlen auf die Blutgerinnung zu sprechen.

Es gelingt bekanntlich durch Kochsalz ungerinnbar gemachtes Blut durch Zusatz von destilliertem Wasser zur Gerinnung zu bringen. Wir bestrahlten derartige Kochsalzplasmen mit Quarzlampenlicht. Nach Zusatz von destilliertem Wasser gerann dies bestrahlte Kochsalzplasma nicht mehr, während die unbestrahlten Kontrollen unter denselben Bedingungen Gerinnung zeigten. Nachstehend ist einer der durchaus gleichmäßig verlaufenden Versuche wiedergegeben.

Versuch 1.

In 5 ccm einer 15%igen Kochsalzlösung werden 5 ccm Blut aus der Carotis eines Kaninchens einfließen gelassen. Nach dem Mischen wird zentrifugiert. Das ziemlich stark rot gefärbte Plasma wird abgegossen und in mehreren kleinen Portionen in horizontal gelagerten Röhrchen aus durchsichtigem Quarz durch 2 Stunden mit der Quarzlampe in einer Entfernung von 50 cm von dem Quarzbrenner bestrahlt. Nach dieser Bestrahlung wurde eine Braunfärbung der früher rot gefärbten Flüssigkeit beobachtet (vgl. Hasselbalch [1]). Hierauf werden in Widalröhrchen je 0,1 ccm des bestrahlten Plasmas mit je 0,5 ccm destillierten Wassers versetzt (6 Proben), ebenso zur Kontrolle je 0,1 ccm des nicht bestrahlten Plasmas mit je 0,5 ccm destillierten Wassers (6 Proben). Die 6 bestrahlten Proben sind nach 24 Stunden noch flüssig, ungeronnen; die 6 unbestrahlten gerinnen nach 15 bis 20 Minuten.

Identische Resultate erzielten wir in mehreren Versuchen mit Meerschweinchenblut.

In einigen anderen Versuchen, von denen nachstehend einer mitgeteilt wird, bestrahlten wir das Kochsalzplasma erst nach der Verdünnung mit destilliertem Wasser. Wir konnten demnach bei dieser Versuchsanordnung die Einwirkung des Quarzlampenlichtes bei bereits eingeleiteter Gerinnung beobachten.

Wir wählten zu diesem Zwecke die Menge des zugesetzten destillierten Wassers derart, daß die Gerinnung erst nach längerer Dauer eintrat. Das Quarzlampenlicht hatte demnach Zeit, seine Wirksamkeit auch nach schon eingeleiteter Gerinnung zu

[1]) Diese Zeitschr. **19**, 435, 1909.

entfalten. Auch bei dieser Versuchsanordnung konnten wir die gerinnungswidrige Wirkung des ultravioletten Lichtes feststellen, namentlich in jenen Versuchen, in denen die Gerinnung nach dem Wasserzusatz sehr langsam eintrat.

Versuch 2.

In 7 ccm einer 15%igen Kochsalzlösung werden 7 ccm Blut aus der Carotis eines Meerschweinchens einfließen gelassen. Nach dem Umschütteln wird zentrifugiert, das Plasma abgegossen. 0,1 ccm Plasma wird mit 2 ccm Wasser versetzt, diese Probe geteilt. Die eine Hälfte in einem horizontal liegenden Röhrchen aus durchsichtigem Quarz durch $1^1/_2$ Stunden bestrahlt. Die andere Hälfte diente in einem ebenfalls horizontal liegenden Widalröhrchen zur Kontrolle. Diese Kontrolle ist nach $1^1/_2$ Stunden schon geronnen, während die bestrahlte Hälfte noch nach 5 Stunden ungeronnen war. Erst nach 18 Stunden wurde in der belichteten Probe eine kleine Fibrinflocke beobachtet. Nach dieser Zeit war die Koagulation in dem Kontrollröhrchen zu einem größeren derben Gerinnsel gediehen.

Wie schon erwähnt, ergaben auch Versuche mit Oxalatplasma, die an Pferde-, Meerschweinchen- und Kaninchenblut angestellt wurden, analoge Resultate. Als Paradigma sei folgender Versuch angeführt.

Versuch 3.

In 50 ccm einer 4%igen Kaliumoxalatlösung werden 550 ccm Pferdeblut einfließen gelassen. Nach dem Umschütteln wird zentrifugiert, das klare, schwach rötlich gefärbte Plasma auf Eis gestellt und am nächsten Tage in kleinen Portionen, wie oben angegeben, bestrahlt. Hierauf werden zu je 0,5 ccm des bestrahlten Plasmas je 0,25 ccm einer 2%igen Lösung von Calciumchlorid zugesetzt, ebenso zu den unbestrahlten Kontrollen. Während die letzteren nach 8 bis 10 Minuten gallertig erstarrten, blieben die beleuchteten Proben, die entfärbt erschienen, in dieser Zeit nach dem Calciumchloridzusatz ungeronnen. Erst nach mehreren Stunden begann eine Niederschlagsbildung, die in den nächsten 18 Stunden langsam zunahm, doch bildete sich keine Gallerte wie in den Kontrollen. Der Niederschlag — offenbar Fibrin — ist in einer klaren, ungeronnenen Flüssigkeit suspendiert.

Klinischer Nachtrag.

Die eingangs erwähnten klinischen Beobachtungen sind nachstehend kurz wiedergegeben, ohne, wie nachdrücklich hervorgehoben werden muß, einen kausalen Zusammenhang zwischen der gerinnungshemmenden Wirkung des ultravioletten Lichtes mit diesen Beobachtungen ohne weiteres konstruieren zu wollen.

Wir sahen bei 3 Kindern während und anscheinend auch durch die Bestrahlung mit Quarzlampenlicht Erscheinungen auftreten, die darauf

hinweisen, daß das ultraviolette Licht eine bedeutende Einwirkung auf den Organismus ausübt. Einmal kam es bei einem 6 Jahre alten Knaben, den wir wegen Fisteln und Wunden tuberkulöser Natur mit der künstlichen Höhensonne bestrahlten, zu einer schweren hämorrhagischen Diathese; während derselben stellte sich fast unstillbares Bluten aus der Nase und aus den granulierenden Wunden ein; außerdem beobachteten wir während derselben Attacke eine akute hämorrhagische Nephritis mit Ödemen und hohem Eiweißgehalte des Harnes. Bei zwei anderen, ebenfalls kindlichen Patienten kam es während der Lichttherapie zum Auftreten von reichlichem Blutfarbstoff im Harne ohne Nephritis. Diese Fälle mahnen jedenfalls sehr zur Vorsicht bei der therapeutischen Anwendung des ultravioletten Lichtes; namentlich ist bei Neigung zu hämorrhagischer Diathese Vorsicht geboten; das ultraviolette Licht muß im Kindesalter mit größter Genauigkeit dosiert werden. Vielleicht mehren sich noch derartige Beobachtungen und setzen uns dann in den Stand, die vielfach noch unklaren Beziehungen des Lichtes zum Blute aufzudecken. Einstweilen wollen wir diese unsere wenigen Erfahrungen am Krankenbette mit aller Vorsicht zur Diskussion stellen.

Bei der besonders von Bering erforschten Wirkung des ultravioletten Lichtes auf den Gesamtorganismus scheint ein Zusammenhang dieser Blutungen mit der Bestrahlung durchaus möglich zu sein. Auch auf die Beobachtungen Linsers u. a. sei hingewiesen.

Zusammenfassung.

1. Mit Quarzquecksilber-Lampenlicht bestrahltes Plasma eines durch Zusatz von konzentrierter Kochsalzlösung ungerinnbar gemachten Blutes gerinnt auch nicht bei nachherigem Zusatz von destilliertem Wasser, während die unbestrahlten Kontrollen nach dem Wasserzusatz schon innerhalb weniger Minuten gerinnen.

2. Durch Bestrahlung mittels Quarzquecksilber-Lampenlichtes ist man imstande, die durch Wasserzusatz im Kochsalzplasma schon eingeleitete Gerinnung merklich zu verzögern.

3. Mit Quarzquecksilber-Lampenlicht bestrahltes Plasma eines durch Zusatz von Kaliumoxalat ungerinnbar gemachten Blutes gerinnt nach Zusatz einer Lösung von Calciumchlorid viel langsamer als die unbeleuchteten Kontrollen unter denselben Bedingungen.

4. Nach unseren klinischen Erfahrungen und denen anderer Autoren ergibt sich die Notwendigkeit einer sehr genauen Dosierung des ultravioletten Lichtes bei Patienten; besondere Vorsicht ist geboten bei Neigung zu hämorrhagischer Diathese.

Verhalten des 3-Oxythionaphthens (Thioindoxyls) im Organismus und über das Thioindican.

Von

Erwin Schwenk.

(Aus der chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Institutes für experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 1. November 1915.)

Trotz der weitgehenden chemischen Analogien, welche die Körper der Thiophenreihe mit den Benzolabkömmlingen aufweisen und die auch physiologische Gleichartigkeit erwarten lassen, sind diese schwefelhaltigen Stoffe doch nur wenig auf ihr Verhalten im lebenden Organismus untersucht worden.

Zuerst hat Heffter[1]) Versuche mit Thiophen angestellt, doch nur für das α-Methylthiophen (Thiotolen) $C_4H_3S.CH_3$ und die Thiophensäure $C_4H_3S.COOH$ scheint das physiologische Schicksal einigermaßen geklärt. Wie H. Levy[2]) fand, wird das Thiotolen in sehr geringer Menge zu Thiophensäure oxydiert, ebenso wie Toluol in Benzoesäure übergeht. Die Thiophensäure wird nach M. Jaffé und H. Levy[3]) mit Glykokoll gepaart, als Thiophenursäure, ausgeschieden, was in der Benzolreihe der Ausscheidung der Benzoesäure als Hippursäure entspricht.

Es bot deshalb Interesse, eine weitere der Thiophenreihe angehörige Substanz auf ihr Verhalten im Organismus zu prüfen. Als solche wählte ich auf Veranlassung von C. Neuberg das 3-Oxythionaphthen (Thioindoxyl), das nicht nur durch

---

[1]) A. Heffter, Arch. f. d. ges. Physiol. 39, 420, 1886.

[2]) Levy, Über das Verhalten einiger Thiophenderivate usw. Inaug.-Diss. Königsberg 1889.

[3]) M. Jaffé und Levy, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 3458, 1888.

seine Ähnlichkeit mit dem α-Naphthol auffällt [vgl. P. Friedlaender[1])], sondern auch zu dem physiologisch bedeutungsvollen Indol und dessen Oxydationsprodukt, dem Indoxyl, insbesondere durch die Arbeiten P. Friedlaenders in eine bemerkenswerte Beziehung gebracht wurde.

Allerdings beschränkten sich diese auf rein chemische Tatsachen; durch die vorliegende Untersuchung konnten sie auch auf physiologischem Gebiet festgestellt werden. Wie zu erwarten war, geht das 3-Oxythionaphthen in den Harn als Ätherschwefelsäure über, ebenso wie das α-Naphthol und das Indoxyl vom Tier als Naphtholätherschwefelsäure bzw. als Indican (indoxylschwefelsaures Kalium) ausgeschieden werden.

NH — CH — COH ⟶ NH — CH — CO.SO_3K

Indoxyl — Indican (indoxylschwefelsaures Kalium)

S — CH — COH ⟶ S — CH — CO.SO_3K

3-Oxythionaphthen (Thioindoxyl) — Thioindican (thioindoxylschwefelsaures Kalium)

Außer in Ätherschwefelsäuren werden die genannten Substanzen auch in gepaarte Glucuronsäuren übergeführt, wie das z. B. für das α-Naphthol von Lesnik und Nencki[2]) und für das im Stoffwechsel entstehende Indoxyl von P. Mayer und C. Neuberg[3]) gezeigt werden konnte. Nach der Verfütterung von Thioindoxyl wies der Harn eine schwache Linksdrehung auf, und es gelang mir, aus ihm geringe Mengen einer schön krystallisierten, die Farbenreaktionen der gepaarten Glucuronsäuren gebenden Substanz zu isolieren, die eine starke Linksdrehung zeigt und bei der Oxydation mit Obermayers Reagens Thioindigo liefert.

---

[1]) P. Friedlaender, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **39**, 1060, 1906.

[2]) M. Lesnik und M. Nencki, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **19**, 1534, 1886.

[3]) P. Mayer und C. Neuberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**, 256, 1900.

I. Isolierung des Thioindicans aus dem Harn.

Zwei etwa $2^1/_2$ kg schwere Kaninchen erhielten im ganzen 10 g Oxythionaphthen[1]), gelöst in Olivenöl, in Portionen von zuerst 0,5 g, dann 1 g täglich per Schlundsonde. Bis auf eine nur kurze Zeit anhaltende Mattigkeit nach jeder Einführung konnte kein besonderer Einfluß der Verfütterung des Präparates festgestellt werden. Der unter Toluol gesammelte Harn wurde nach jeder Entleerung durch Abgießen von den gröbsten Verunreinigungen befreit und in einer Sammelflasche aufbewahrt, wobei die Reaktion durch Zusatz von Kaliumcarbonat stets alkalisch gehalten wurde.

Der so erhaltene Harn betrug etwa 1,5 l und zeigte keine ungewöhnliche Verfärbung. Er gab bei der Oxydation mit Eisenchlorid und Salzsäure nach Obermayer eine rote Färbung der Chloroformausschüttelung, die von Thioindigo herrührte. In manchen Proben hatte der Chloroformauszug eine violette Farbe. Neben einer Beimengung des aus dem gewöhnlichen Harnindican entstehenden Indigotins kommt als Ursache hierfür auch die Bildung von 2-Thionaphthen-2-indolindigo durch die gleichzeitige Oxydation von Indican und Thioindican in Betracht[2]). Da solchen violetten Ausschüttelungen auch die für Thioindigo charakteristische Fluorescenz fehlte, gewinnt die zweite Vorstellung an Wahrscheinlichkeit.

Der native Harn zeigte eine schwache Linksdrehung.

Ein Viertel des gesamten Harns wurde zu dem Versuch der Isolierung der Thioindoxylglucuronsäure abgeteilt und die anderen drei Viertel auf das Thioindican verarbeitet. Die Isolierungen schließen sich an die bekannten Vorschriften[3]) an;

---

[1]) Der Farbenfabrik Kalle & Co., Biebrich a. Rh., bin ich für die freundliche Überlassung einer größeren Menge von Oxythionaphthenschmelze zu Dank verpflichtet. — Aus der Schmelze wurde das Oxythionaphthen nach dem Zersetzen durch verdünnte Schwefelsäure mit Wasserdampf übergetrieben; die so erhaltenen, fast weißen Krystalle wurden ohne weitere Reinigung verwendet.

[2]) Vgl. A. Jolles und E. Schwenk, Österr. Patentanmeldung A. 7329/14, wo die Bildung von 2-Thionaphthen-2-indolindigo (Cibaviolett) durch gemeinsame Oxydation von Indoxyl und Thioindoxyl mit Eisenchlorid beschrieben ist.

[3]) Siehe bei C. Neuberg, „Der Harn", S. 447 u. 726.

das große Krystallisationsvermögen der Thionaphthenabkömmlinge und die verhältnismäßige Schwerlöslichkeit des durch Synthese gewonnenen Thioindicans (s. S. 387) veranlaßten dabei den folgenden Arbeitsgang.

Der Harn wurde als solcher im Vakuum von 13 mm bei etwa 40° Badtemperatur so lange eingedampft, bis sich eine ziemliche Menge von Salzen usw. abgeschieden hatte. Eine Trennung durch Absaugen von der nun sirupartigen Mutterlauge war aber nicht mehr möglich. Es wurde daher in der Wärme mit einer solchen Menge von absolutem Alkohol aufgenommen, daß die Konzentration des Alkohols etwa 80% betrug. Der nach dem Erkalten ungelöst bleibende, schmierige Rückstand enthielt keine farbstoffbildende Substanz mehr. Die Lösung wurde mit etwa der gleichen Menge von Äther versetzt und im Eisschrank 24 Stunden stehen gelassen. Die abgeschiedene, von Krystallen durchsetzte Schmiere wurde wieder in 80%igem Alkohol aufgenommen und wie vorher mit Äther gefällt. Der so erhaltene Niederschlag wurde wieder in sehr wenig Alkohol gelöst und die Lösung als solche im Eisschrank stehen gelassen. Die abgeschiedenen Krystalle wurden abgesaugt und aus Wasser umkrystallisiert. Aus der erkalteten Lösung schieden sich die charakteristischen glänzenden Blättchen des Thioindicans aus, die noch einmal aus 96%igem Alkohol umkrystallisiert wurden. Aus der alkoholischen Mutterlauge wurde durch Fällung mit Äther noch eine geringe Menge Substanz erhalten.

Ebenso wie das synthetische Thioindican färbten sich die Krystalle beim Erhitzen im Capillarrohr von 180° ab rötlich und schmolzen unscharf bei 225° zu einer tiefroten Flüssigkeit. Die Obermayersche Oxydationsprobe gab eine rein lebhaftrote Chloroformausschüttelung mit starker gelber Fluorescenz, wie sie die Lösungen von Thioindigo zeigen. Die ganze erhaltene Substanz wurde für die Bestimmung der abspaltbaren Schwefelsäure verwendet.

Zu diesem Zwecke wurde die wäßrige Lösung des Präparates mit Salzsäure und Bariumchlorid versetzt und 4 Stunden auf dem siedenden Wasserbad erwärmt. Die zuerst klare Lösung trübt sich nach einiger Zeit von ausgeschiedenem Bariumsulfat. Noch später beginnt die Abscheidung roter Flocken (wahrscheinlich Thioindigo), die aber das Re-

sultat nicht beeinflussen. Sie wurden mit dem Bariumsulfatniederschlag zusammen wie gewöhnlich abfiltriert und geglüht.

0,1246 g Substanz gaben 0,1097 g $BaSO_4$.
Gefunden 12,10% S.
Berechnet für $C_8H_5S_2O_4K$ = 11,95% S.
(268,29)

Die alkoholische Lösung des Harnrückstands, aus der das Thioindican auskrystallisiert war, wurde zusammen mit den verschiedenen alkoholisch-ätherischen Mutterlaugen von Alkohol und Äther befreit und zuerst im Faust-Heimschen Trockenapparat, dann im Vakuumexsiccator über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet. Es hinterblieb eine braungefärbte, teilweise von Krystallen durchsetzte Schmiere, die noch starke rote Obermayer-Reaktion gab. Da aus ihr kein Thioindican mehr zu isolieren war, wurde sie in Wasser gelöst und die Lösung so aufgearbeitet wie das für die Isolierung der Thioindoxylglucuronsäure abgeteilte Viertel des Gesamtharns; sie gab aber nur wenig stark verunreinigte Krystalle.

II. Synthese von Thioindican (3-oxythionaphthenschwefelsaurem Kalium).

Zum Vergleich habe ich das Thioindican aus dem 3-Oxythionaphthen auf dem gleichen Wege wie früher das gewöhnliche Indican des Harns[1]) nach der Verleyschen Chlorsulfonsäuremethode[2]) dargestellt.

$$C_6H_4{<}^{S}_{C(OH)}{>}CH + Cl.SO_3H \longrightarrow C_6H_4{<}^{S}_{C(O.SO_3H)}{>}CH$$

5 g Oxythionaphthen wurden in trockenem Pyridin gelöst und zu einer Mischung von 15 g Chlorsulfonsäure und 50 g Pyridin gegeben. Das Ganze blieb zunächst 2 Stunden im Brutschrank von 38° und wurde dann noch 24 Stunden bei Zimmertemperatur (20°) stehen gelassen, wobei die anfänglich ausgeschiedene Pyridinchlorsulfonsäuredoppelverbindung in Lösung ging. Die rot gefärbte Flüssigkeit, in der nur wenig

---

[1]) E. Schwenk und A. Jolles, diese Zeitschr. 69, 467, 1915.
[2]) A. Verley, Chem. Centralbl. 1901, I, 313.

Krystalle zu sehen waren, wurde im Vakuum von 13 mm bei 40° Wasserbadtemperatur von Pyridin größtenteils befreit. Danach wurde mit einer Auflösung von 26 g Kaliumhydroxyd in 50 ccm Wasser versetzt und wieder wie vorher im Vakuum destilliert. Als durch das ausgeschiedene Krystallmehl das Stoßen der Flüssigkeit zu heftig wurde, saugte ich von dem hauptsächlich aus Kaliumsulfat und Thioindican bestehenden Niederschlag ab und krystallisierte ihn aus Wasser um. Ich erhielt so 5,8 g, das sind 65% der theoretischen Ausbeute, an fast reinem (nur noch etwas sulfathaltigem) Produkt, das zur Analyse nochmals aus Wasser umkrystallisiert wurde. Durch weiteres Einengen der Mutterlauge von der Vakuumdestillation wurden nach mehrmaligem Umkrystallisieren schließlich noch 0,8 g reine Substanz erhalten, so daß die gesamte Ausbeute ca. 74% beträgt.

a) Bestimmung der abspaltbaren Schwefelsäure.

0,2015 g Substanz gaben 0,1775 g $BaSO_4$.
0,2391 g " " 0,2039 g $BaSO_4$.

b) Bestimmung des Gesamtschwefels (Soda-Salpeterschmelze).

0,1991 g Substanz gaben 0,3408 g $BaSO_4$.
Gefunden: a) Abspaltbarer Schwefel = 12,10%; 11,72%.
b) Gesamtschwefel = 23,52%.
Ber. für $C_8H_5S_2O_4K$: a) Abspaltbarer Schwefel = 11,95%.
b) Gesamtschwefel = 23,91%.

Das Thioindican zeigt in seinem äußeren Aussehen die größte Ähnlichkeit mit dem gewöhnlichen Harnindican. Wie dieses krystallisiert es in viereckigen, silberglänzenden weißen Blättchen, die in Wasser etwas schwerer löslich sind als die des Stickstoffanalogen. Wie dieses ist es in 96%igem Alkohol in der Wärme löslich und scheidet sich aus ihm beim Erkalten in perlmutterartig glänzenden Blättchen aus. Im Capillarrohr erhitzt, färbt es sich von 180° ab rot und schmilzt unscharf bei 225° zu einer tiefroten Flüssigkeit. Gegen hydrolysierende Einflüsse scheint es beständiger als Harnindican zu sein. Man muß die mit Salzsäure angesäuerte Lösung ziemlich lange erhitzen, bis eine Rotfärbung eintritt.

III. Verhalten des Thioindicans im Licht.

In reinem Zustand ist das Thioindican ebenso wie das Harnindican beständig und in Substanz auch nicht besonders lichtempfindlich.

Bei Gegenwart von Lichtkatalysatoren wird es im Lichte aber leicht zersetzt, ganz so wie es von Neuberg und Schwenk[1]) vor kurzem für das Harnindican gezeigt werden konnte. Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über das Verhalten des Thioindicans im Sonnenlicht bei Gegenwart von Photokatalysatoren.

Je 3 ccm einer 0,75 $^0/_0$igen wäßrigen Thioindicanlösung wurden in gewöhnlichen Reagensröhren unter Zusatz von 0,3 ccm der 0,1 $^0/_0$igen Katalysatorlösungen durch 5 Stunden an einem kalten Herbsttage (Temperatur ca. + 5°) dem Sonnenlicht ausgesetzt. Die gleichen Ansätze wurden im Dunkeln stehen gelassen. Sie blieben unverändert. Nach der angegebenen Zeit hatte sich dagegen in den belichteten Röhrchen der entstandene Farbstoff — zum Teil sogar in Flocken — abgesetzt. Nun wurden in jedes Reagensglas 5 ccm Chloroform getan und nach dem Umschütteln die Farbstärke der rein roten Lösungen untereinander verglichen.

Zugesetzter Katalysator	Färbung	
	Sonnenversuch	Dunkelversuch
0,3 ccm Ferriammonsulfat .	deutlich	—
0,3 ccm Uransulfat	stark	—
0,3 ccm dichloranthracendisulfosaures Natrium . . .	schwach	—
0,3 ccm Ferriammonsulfat + 0,3 ccm $^n/_{10}$-HCl . . .	sehr stark	ganz schwach
Kontrolle: 0,3 ccm Wasser	deutlich	—

Es scheint, als ob die Zersetzung durch das Licht bei Gegenwart von Katalysatoren schwerer als beim Harnindican erfolgt.

IV. Versuch zur Isolierung der Thioindoxylglucuronsäure ($C_8H_5SO.C_6H_8O_6K$).

Das anfänglich abgeteilte Viertel des Gesamtharns wurde mit Bleiacetat vollständig ausgefällt und hierauf vom Nieder-

[1]) C. Neuberg und E. Schwenk, diese Zeitschr. 71, 219, 1915.

schlag abfiltriert. Nach gutem Auswaschen zeigte sich dieser frei von thioindigobildender Substanz. Das Filtrat wurde mit Bleiessiglösung vollkommen ausgefällt. Der Niederschlag enthielt einen farbstoffgebenden Körper. Er wurde mit kaltem Wasser gut ausgewaschen, in wenig Wasser aufgeschwemmt und dann unter Zugabe von gefälltem Bariumcarbonat mit Schwefelwasserstoff entbleit. Das klare und von überschüssigem Fällungsmittel durch Aufkochen befreite Filtrat vom Schwefelblei wurde im Faust-Heimschen Apparat bei niedriger Temperatur eingedunstet und schließlich im Exsiccator über konzentrierter Schwefelsäure völlig eingetrocknet. Die feste Krystallmasse wurde gepulvert und zuerst einmal mit absolutem, dann mit $96\,^0/_0$igem Alkohol so lange extrahiert, bis der Rückstand fast frei von thioindigobildenden Stoffen war. Nach dem Verjagen des Alkohols hinterblieb ein braungefärbter Krystallkuchen, der von etwas Schmiere durchsetzt war. Er wurde in wenig Wasser aufgenommen, mit wenig Tierkohle erwärmt und die filtrierte braune Lösung stehen gelassen. Aus dieser schieden sich nach mehrtägigem Stehen lange, zu Drusen vereinigte Nädelchen ab, die abgesaugt wurden. Die eingeengte Mutterlauge gab noch etwas Substanz, die durch Aufstreichen auf Ton gereinigt werden konnte. Beide Fraktionen wurden noch zweimal aus Wasser umkrystallisiert.

Die erhaltene, in schönen Nadeln krystallisierte Substanz gab eine starke Orcinreaktion, aber nur eine schwache Naphthoresorcinprobe und eine schöne reinrote Nuance bei der Obermayer-Reaktion. Eine $0{,}65\,^0/_0$ige Lösung drehte im 100-ccm-Rohr entsprechend $-\,0{,}45^0$ Glucose nach links, woraus sich eine spezifische Drehung von $[\alpha] = -\,66{,}12^0$ berechnet. Mit Fehlingscher Lösung gekocht, wird die Substanz als solche nicht reduziert[1]). Nach

[1]) Aus der erkalteten alkalischen Mischung fallen in geringer Menge goldglänzende Schüppchen, die sich in Alkohol mit tiefvioletter Farbe lösen und mit dem von P. Friedlaender (Ber. **44**, 3098, 1911 und **47**, 1929, 1914) beschriebenen Natriumsalz des Thioindogenids

```
          S                S
  /\  /\                /\  /\
 |  ||  C—CH=C      C  ||  |
 |  ||  COH       OC   ||  |
  \/  \/                \/  \/
```

identisch sein dürften, das aus Oxythionaphthen mit Alkali bei Gegenwart von Formaldehyd, Traubenzucker oder Chloroform entsteht.

längerem Kochen mit konzentrierter Salzsäure, wobei die Lösung sich schön gelb färbt und schließlich Thioindigo fallen läßt, tritt mit Fehlingscher Lösung schwache Reduktion ein. Konzentrierte Schwefelsäure löst mit gelber Farbe; beim Erwärmen geht diese durch Tiefblaugrün in ein schmutziges Braun über.

Die Substanz schmilzt unter Zersetzung bei 199 bis 200°. Die über konzentrierter Schwefelsäure im Vakuum getrockneten Krystalle wurden analysiert.

0,1484 g Substanz gaben 0,0968 g $BaSO_4$ (Carius).

Gefunden . . . . 8,96 % S.

Berechnet für $C_8H_5S.O.C_6H_8O_6K$ . . 8,80 % S.

Wenn auch eine weitergehende Untersuchung des Körpers nicht vorgenommen werden konnte, so machen es doch Analyse, Reaktionen und Drehungsvermögen wahrscheinlich, daß in demselben das Kaliumsalz der Thioindoxylglucuronsäure, wenn auch vielleicht noch nicht völlig rein, vorliegt.

Untersuchungen über Enzyme. X.

Versuche zur enzymatischen Synthese von Disacchariden.

Von

Walther Löb.

(Aus der biochem. Abteil. des Virchow-Krankenhauses zu Berlin.)

(Eingegangen am 20. November 1915.)

Bei meinen Versuchen über die Beeinflussung der Geschwindigkeit von Enzymreaktionen durch die stille Entladung[1]) beschäftigte ich mich mit den Enzymen der Zuckerrübenwurzel, um Vorgänge zu suchen, welche die Hydrolyse des Rohrzuckers und ihre Umkehrung, die Synthese aus Hexosen, quantitativ zu

---

[1]) Diese Zeitschr. **69**, 1, 1915.

Anmerkung: Um den Zusammenhang meiner Enzymuntersuchungen auszudrücken, erscheint es mir zweckmäßig, die einzelnen Veröffentlichungen zu numerieren. Die bereits erschienenen Arbeiten sind die folgenden:

I. Zur Wertbestimmung der Katalasen und Oxydasen im Blut. Diese Zeitschr. **13**, 339, 1908.

II. mit Mulzer: Zur Wertbestimmung der Katalasen und Oxydasen im Blut. Ebenda **13**, 475, 1908.

III. mit Higuchi: Zur Kenntnis der Placentaenzyme. Ebenda **22**, 316, 1910.

IV. mit Koblanck: Über ein peptidspaltendes Enzym in den Ovarien. Ebenda **29**, 102, 1910.

V. mit Tanaka: Zur Kenntnis der Milzenzyme. Ebenda **37**, 249, 1911.

VI. mit Gutmann: Zur Kenntnis der Enzyme der Ovarien. Ebenda **41**, 445, 1912.

VII.: Einige Beobachtungen über die Pankreasdiastase. Ebenda **46**, 125, 1912.

VIII. mit Buetow: Zur Kenntnis der Hypophysenenzyme. Ebenda **54**, 40, 1913.

IX. Zur Frage der Elektrokultur I. Mit Sato: Beeinflussung von Enzymreaktionen durch die stille Entladung. Ebenda **69**, 1, 1915.

verfolgen gestatten. Das Ergebnis, nach der Seite der Synthese hin negativ, bietet einen Beitrag zu der Frage der Rohrzuckerbildung in der Zuckerrübe. Im Zusammenhang mit dieser Untersuchung wurden auch einige Beobachtungen über das Verhalten der Invertasen der Hefe, des Pankreas und der Kefirknollen gemacht, über die im experimentellen Teil kurz berichtet wird.

Es ist seit längerer Zeit bekannt, daß der Rohrzucker in dem Blatt der Zuckerrübe entsteht und nach und nach in die Wurzel wandert. Weiter aber ist es nach den Angaben mehrerer Forscher wahrscheinlich, daß die Wanderung aus den Blättern in die Wurzel nicht in der Form von Rohrzucker vor sich geht, da das Hyaloplasma für ihn undurchlässig ist, sondern daß der Rohrzucker eine Spaltung in reduzierenden Zucker erleidet, als Invertzucker in die Wurzel gelangt und dort aufs neue in Rohrzucker verwandelt wird. Von de Vries, Gonnermann u. a. werden für den Übergang der Monosen in Rohrzucker Enzyme verantwortlich gemacht, wobei durch die mit der Synthese verbundene Verringerung des osmotischen Druckes im Wurzelsaft das Nachströmen des Blättersaftes begünstigt werden soll. In letzter Zeit hat sich Colin[1]) mit der Frage der Rohrzuckerbildung in der Rübe beschäftigt und nachgewiesen, daß die Abnahme der Saccharose in den Blättern nicht nur auf einem direkten Übergang in die Wurzel zu beruhen braucht, sondern auch andere Umwandlungen des Rohrzuckers für sein Schwinden aus den Blättern verantwortlich zu machen sind. Da der untere Teil des Blattstiels im Gegensatz zur Wurzel selbst Invertzucker enthält, so schließt Colin, daß die Wurzel einerseits aus den Blättern direkt Rohrzucker, andererseits aber aus den Stielen auch reduzierende Zucker erhält, die in der Wurzel polymerisiert werden.

Alle diese Angaben sind experimentell noch nicht sichergestellt, so daß es mir wünschenswert erschien, zu untersuchen, ob der Wurzelsaft oder die ganze Wurzel überhaupt Enzyme enthält, die die Inversion des Rohrzuckers umzukehren vermögen. Daß die Möglichkeit einer derartigen Enzymwirkung vorliegt, geht aus dem Vorhandensein einer Invertase hervor,

[1]) Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. **159**, 687, 1914.

durch die beim längeren Lagern ein Teil des Rohrzuckers nach und nach in Invertzucker übergeführt wird. So hat Strohmer[1]) die Gegenwart einer Invertase und die langsam und nur im geringen Umfange stattfindende Inversion des Rohrzuckers in der Zuckerrübe nachgewiesen.

Aber selbst für den Fall, daß in der Zuckerrübenwurzel Invertasen stets wirksam sind, liegen die Verhältnisse für die Beobachtung einer Umkehrung der Inversion im künstlichen Versuch recht ungünstig. Nach den heute geltenden Vorstellungen sind die Enzymreaktionen umkehrbar, d. h. das Gleichgewicht läßt sich von beiden Seiten erreichen, im vorliegenden Fall also sowohl durch eine Hydrolyse des Rohrzuckers als auch durch seine Synthese aus Invertzucker. Nun stellt sich aber, wie aus den zahlreichen Versuchen über Invertasewirkung auf Rohrzucker hervorgeht, das Gleichgewicht so zugunsten der Hydrolyse ein, daß die Spaltung des Rohrzuckers durch das Enzym als eine vollständige aufgefaßt werden kann.

A. Blagowestschenski[2]) hat vor einiger Zeit auf Grund älterer und eigener Beobachtungen den Schluß gezogen, daß bis jetzt keine Erfahrungen vorliegen, die die Frage einer enzymatischen Rohrzuckersynthese mittels Hefeinvertase im positiven Sinne beantworten. Auch die theoretische Interpretation der Resultate läßt eine Reversion unter gewöhnlichen Verhältnissen als äußerst unwahrscheinlich erscheinen.

Man könnte nichtsdestoweniger versuchen, durch Anwendung hochkonzentrierter Invertzuckerlösungen eine, wenn auch sehr geringe, Bildung von Rohrzucker nachzuweisen, um sich überhaupt über den Eintritt der Reversion zu unterrichten. Dem steht aber bei der Zuckerrübenwurzel die Schwierigkeit entgegen, daß sie bereits ungemein reich an Rohrzucker ist und daher dem hydrolytischen Angriff im künstlichen Versuch, dem ja die biologischen Regulationen fehlen, einen sehr günstigen Boden bietet. Andererseits läßt sich nicht voraussehen, ob es gelingt, die fraglichen Enzyme von dem Rohrzucker der Wurzel ohne Schädigung der Enzyme zu trennen, um eine Einwirkung auf reine konzentrierte Invertzuckerlösung herbeizuführen. Bei

[1]) Österr.-ung. Zeitschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtschaft 31, 933, 1903.

[2]) Diese Zeitschr. 61, 446, 1914.

dieser schwierigen Sachlage erscheint als letzte Möglichkeit des künstlichen Versuches, die Versuchsbedingungen so zu wählen, daß die Gleichgewichtslage der Enzymreaktion zugunsten der Synthese verschoben wird. Für diese Möglichkeit bieten sich zwei Wege, entweder man versucht durch die Wahl des Milieus einen Einfluß auf das Gleichgewicht zu erreichen, indem man z. B. ein Lösungsmittel anwendet, das den gebildeten Rohrzucker leicht zur Ausscheidung bringt, wodurch ein Fortschritt der Synthese herbeigeführt werden kann, oder auf andere Weise für die Entfernung des Rohrzuckers sorgt. Da der ausgeschiedene Rohrzucker an den Gleichgewichtsbedingungen in der Lösung nicht mehr teilnimmt, würde nach und nach eine Anreicherung an Rohrzucker möglich sein. Oder man versucht auf Grund der bekannten van't Hoffschen Gleichgewichtsgleichung:

$$\frac{d \ln K}{dT} = -\frac{q}{RT^2}$$

das Gleichgewicht im Sinne der endothermischen Reaktion durch Wärmezufuhr zu verschieben. Hier sind die Grenzen durch die Thermolabilität der Enzyme gesetzt, so daß man über eine Temperatur von 55° kaum hinausgehen darf. Schließlich ist zu berücksichtigen, daß die Enzyme so fest an die zellige Struktur der Wurzel gebunden sein können, daß es nicht gelingt, die Invertase in den Preßsaft zu bringen. Man muß deshalb auch das gesamte Wurzelmaterial auf seine enzymatischen Wirkungen hin untersuchen. Alle die aus den geschilderten Gesichtspunkten hervorgehenden Versuche sind durchgeführt worden, aber mit negativem Erfolge, so daß bis jetzt keine experimentelle Stütze für die eingangs wiedergegebene Anschauung besteht, nach der der Rohrzucker nach seiner Inversion zur Wurzel wandert und dort enzymatisch wieder synthetisiert wird.

Bezüglich der Substrate für die Gleichgewichtsversuche mit Enzymen besteht häufig überhaupt eine nicht leicht zu umgehende Schwierigkeit. Um eine Hydrolyse mit Sicherheit zu den Spaltungsprodukten zu führen, die bei der Synthese wieder verwertet werden sollen, darf man nicht mit dem Enzym, dessen synthetische Eigenschaften geprüft werden sollen, die Hydrolyse durchführen, weil diese natürlich bis zu dem Gleichgewichtszustand, der für die Betätigung des Enzyms charakteristisch ist, führt. Man kann deshalb nicht erwarten, wenn man zu dem

enzymatisch erhaltenen Hydrolysengemisch aufs neue Enzym zusetzt, nunmehr eine Synthese, oder, was dasselbe ist, eine Verschiebung des Gleichgewichtes zu erreichen, vielmehr wird eine weitere Änderung der Zusammensetzung, da das Gleichgewicht der enzymatischen Reaktion schon vorher herrschte, nicht eintreten können. Man könnte versuchen, falls man nicht, wie beim Invertzucker, in der Lage ist, von den reinen Spaltprodukten, dem Traubenzucker und dem Fruchtzucker, auszugehen, durch ein anderes, gleichfalls hydrolytisch in dem gewünschten Sinne wirkendes Enzym die Hydrolyse bis zu dem diesem Enzym eigenen Gleichgewichtszustand durchzuführen, dann das Enzym zu vernichten, und nunmehr das zweite Enzym, dessen synthetische Eigenschaften untersucht werden sollen, zuzusetzen. Voraussetzung für das Gelingen eines solchen Versuches wäre der Umstand, daß das Gleichgewicht der ersten Hydrolyse mehr zugunsten der Spaltprodukte läge als das dem zweiten Enzym zukommende. So wurde auch für den vorliegenden Fall der Versuch gemacht, das Substrat in der Weise zu gewinnen, daß eine konzentrierte Rohrzuckerlösung durch die Invertase der Hefe und des Schweinepankreas invertiert wurde, diese Invertase durch Aufkochen der Flüssigkeit zerstört und nunmehr die Invertase der Zuckerrübenwurzel zur Wirkung gebracht wurde. Für die untersuchte Reaktion hatte diese Anordnung ebensowenig Erfolg, wie eine Substratherstellung durch Säurehydrolyse des Rohrzuckers mit folgender Neutralisation.

Bei der Rohrzuckerhydrolyse besteht die erörterte Schwierigkeit prinzipiell nicht, weil einerseits die Hydrolyse immer zu denselben Spaltzuckern führt, andererseits diese leicht in reiner Form erhältlich und daher vollkommen frei von Rohrzucker zum Versuch zu bringen sind. Wohl aber tritt sie bei komplizierteren Hydrolysen, wie der des Caseins oder der Stärke, zutage, bei denen die Spaltprodukte in ihrer qualitativen und quantitativen Mischung noch nicht mit Sicherheit erkannt sind, und für die Zweifel bestehen, ob durch die Säurehydrolyse genau das gleiche Hydrolysengemisch wie durch die Enzymhydrolyse gebildet wird. Für die hochmolekularen Eiweißkörper ist das sicher nicht der Fall. Es bleibt dann nichts anderes übrig, als mit dem für die Synthese in Aussicht genommenen Enzym auch die Hydrolyse durchzuführen und die

zur Verfügung stehenden Mittel einer Gleichgewichtsverschiebung durch Milieuänderung oder Variierung der Energiezufuhr zu versuchen.

An dieser Stelle sei zu den Versuchen Abderhaldens[1]) über die Synthese von Polypeptiden durch Fermente folgendes bemerkt. Die Herstellung der Substrate geschah aus Organen, wie Leber, Niere, Schilddrüse und Lunge mittels Magensaft, Pankreassaft und Darmpreßsaft. Die Verdauung wurde bis zum Schwinden der Biuretprobe fortgesetzt. Vor dem Ansetzen der synthetischen Versuche wurden die Enzyme in den Substraten durch Sterilisieren unwirksam gemacht. Der Gleichgewichtszustand in den Substraten ist durch die vernichteten Enzyme geregelt und kann keineswegs durch Zusatz der gleichen Enzyme unter sonst gleichen Bedingungen verändert werden. Dieser Forderung entspricht die Beobachtung Abderhaldens, daß die zur Verdauung benutzten Gemische, wie Magensaft, Darmsaft, Pankreassaft, aufs neue den sterilisierten Substraten zugefügt, wirkungslos bleiben. Wenn nun der Zusatz von Organmacerationssäften zu den Aminosäuregemischen aus dem gleichen Organ zur Synthese führt, so würde das bedeuten, daß die Enzyme des Organs — und damit die Autolyse des Organs — einen anderen Gleichgewichtszustand im Abbau ergeben, wie die benutzten Verdauungssäfte. Das wäre möglich, aber diese Frage ist experimentell noch nicht untersucht. Es ist dabei zu bedenken, daß die Organsäfte zweifellos Enzyme tryptischer Natur enthalten (wie z. B. der Macerationssaft der Leber). Diese müßten also gegenüber dem Lebereiweiß einen anderen Abbauzustand schaffen als das Pankreastrypsin. Erst der sichere Nachweis, daß dem so ist, scheint mir den Eintritt einer Synthese verbürgen zu können, nicht aber das Auftreten der Biuretreaktion, die wohl zum Wegweiser, nicht aber zur entscheidenden Beobachtung geeignet ist.

Da der Gleichgewichtszustand nach der dynamischen Auffassung lediglich ein Zustand gleicher Reaktionsgeschwindigkeiten der entgegengesetzten Reaktionen ist, so eignet sich für die synthetischen Versuche ein Milieu, in dem die Hydrolysengeschwindigkeit eine verminderte ist.

---

[1]) Fermentforschung 1, 47, 1914.

Es besteht ein Zusammenhang zwischen der dissoziierenden Kraft eines Lösungsmittels und der in ihm statthabenden Hydrolysengeschwindigkeit. Je größer die erstere ist, desto größer auch die letztere. So ist die Hydrolyse in Benzylalkohol, Aceton, Methylalkohol, Äthylalkohol, Benzol und Äther geringer als in Wasser, und zwar fällt die Geschwindigkeit in der mitgeteilten Reihenfolge[1]). Man wird also in dem Maße, als die Eigenschaften der Enzyme und die Löslichkeiten der Substrate eine Anwendung nichtwässeriger Lösungsmittel für sich oder in Mischung mit Wasser gestatten, auch dieses Mittel gebrauchen müssen, um das Gleichgewicht zugunsten der Synthese zu verschieben. Es ist natürlich mit der Möglichkeit zu rechnen, daß auch die synthetische Reaktion in den nicht wässerigen Lösungsmitteln in gleicher Weise gehemmt wird, so daß es zu einer Verschiebung des Gleichgewichts gar nicht kommt. Auf der anderen Seite aber ist zu beachten, daß die wasseranziehende Kraft mancher nicht wässeriger Lösungsmittel zu einer Beteiligung an der Reaktion, einer Wasserabspaltung, führt, die den synthetischen Vorgang auf Kosten der Hydrolyse fördert und so ein der Synthese günstiges Gleichgewicht schaffen hilft. Die aus diesen Überlegungen hervorgehenden Versuche sind für die hier behandelte Frage ohne Erfolg angewandt worden.

Die schon erwähnte Schwierigkeit, daß der Rübensaft reichlich Rohrzucker enthält, führte zu Versuchen, diesen Rohrzucker vorher ohne Schädigung der Enzyme zu entfernen. Das geschah erstens in der Weise, daß durch Fällung eine zuckerfreie Enzymmischung hergestellt wurde, dann durch Inversion des Saftes mittels der Hefe- und Pankreasinvertase, schließlich durch Vergärung des Rohrzuckers des Saftes mittels Hefe.

Allgemein ist bezüglich der synthetischen Wirkung der Enzyme noch zu berücksichtigen, daß im künstlichen Versuch auch der Tatsache des endothermen, Energie verbrauchenden Verlaufs der meisten Synthesen Rechnung getragen werden muß. Es kann sein, daß der Vorgang durch Ausnutzung der Wärme der Umgebung, besonders bei Versuchen im Brutschrank, sich die Energielieferung selbsttätig besorgt. Will man die

---

[1]) Vgl. u. a. Euler und Beth af Ugglas, Chem. Centralbl. 2, 1187, 1909; von Halban, Zeitschr. f. physikal. Chem. 84, 129, 1913.

natürlichen Verhältnisse nachahmen, so wird man an chemische Energiezufuhr durch eine mit der Synthese gekoppelte exotherme Reaktion in erster Linie zu denken haben, wenn auch direkte Energiezufuhr, wie Licht, Strahlen, Elektrizität, Wärme häufig, zumal in den pflanzlichen Synthesen, verwertet wird. Die Möglichkeit der Energiebesorgung aus verschiedenen Quellen ist in der vorliegenden Arbeit noch nicht geprüft, sondern lediglich die Wärme der Umgebung zur Verfügung gestellt worden.

Experimentelles.

A. Versuche mit der Invertase der Zuckerrübenwurzel.

Die zur Untersuchung benutzten Zuckerrüben stammten aus dem Institut für Zuckerrübenindustrie, waren vollkommen gesund und wurden bei etwa 3° aufbewahrt. Das durchschnittliche Gewicht der möglichst gleich groß ausgesuchten Rüben betrug 550 bis 600 g. Sie wurden zunächst äußerlich durch Waschen mit Wasser von anhaftenden Erdbestandteilen befreit und abgetrocknet. Bei der Herstellung des Saftes verwandte ich sowohl sorgfältig geschälte wie ungeschälte Rüben, ohne daß ein Unterschied im Verhalten festgestellt werden konnte. Um den Saft zu gewinnen, ist eine Zerkleinerung der Rüben erforderlich, die sich am besten durch Zerreiben auf einer gewöhnlichen Küchenreibe erreichen ließ. Der so gewonnene Brei liefert einen Preßsaft von etwa 220 bis 260 ccm pro Rübe. Der Saft ist zunächst fast farblos, färbt sich aber nach kurzer Zeit blaugrau, eine Färbung, die auch in der Faserung der durchgeschnittenen Wurzel beim Liegen an der Luft schnell eintritt. Es beruht daher die Verfärbung wohl auf einem durch Enzyme beschleunigten Oxydationsvorgang unter Mitwirkung des Luftsauerstoffs. Ob eine Tyrosinase, wie bei den Kartoffeln, hierbei eine Rolle spielt, wurde nicht untersucht, wohl aber ließ sich die Beobachtung bestätigen, daß sowohl Katalase wie Peroxydase, letztere geprüft gegenüber einem Benzidinwasserstoffperoxydgemisch in Eisessig, in reichlicher Menge vorhanden sind. Der Saft ist gegenüber Lackmus neutral und gibt keine Jodreaktion, die auf gelöste Stärke oder Erythrodextrin schließen ließe. Der sofort nach seiner Gewinnung filtrierte Saft läßt beim Stehen nach und nach einen blaugrauen Niederschlag

ausfallen. Für alle Versuche wurde der Saft frisch hergestellt jedesmal unter Verwendung einer Rübe. Der Gehalt des Saftes an Rohrzucker betrug im Durchschnitt 21 bis 22 %.

Die Dauer der Einwirkung wurde von mehreren Tagen bis auf mehrere Monate ausgedehnt. Die Versuchsmischungen befanden sich in Glasflaschen mit eingeschliffenen Glasstöpseln, die, um jeden Verlust zu vermeiden, durch Festbinden oder Paraffin gesichert waren, unter Zusatz von 1 Volumprozent Toluol in auf 37° bzw. 55° eingestellten Brutschränken. Nach Abschluß des Versuches wurde der Inhalt der Flaschen quantitativ unter gründlichem Nachwaschen mit Wasser in Meßkolben übergeführt. Mit kolloidaler Eisenoxydlösung und Natriumsulfat wurden die kolloiden Substanzen ausgefällt. Nach Auffüllung mit Wasser bis zur Marke gelangten die Filtrate zur Analyse, der zur Orientierung meist die Polarisation der Lösung vorausging. Die Menge der reduzierenden Zucker wurde nach der Bertrandschen Methode festgestellt, die des Rohrzuckers nach der gleichen Methode nach seiner Inversion durch halbstündiges Erwärmen auf dem Dampfbad mit je 10 ccm $^n/_5$-Salzsäure auf 100 ccm Flüssigkeit. Alle Versuche sind mit Kontrollen ausgeführt, die einmal das Verhalten des gekochten Saftes, dann des Saftes ohne Invertzucker und schließlich des Invertzuckers ohne Saft unter den gleichen Bedingungen betrafen.

Allgemeines Verhalten des Saftes.

Die Menge des aus einer 600 g schweren Rübenwurzel ausgepreßten Saftes betrug 260 ccm. Die Wurzel war vor der Zerkleinerung nur abgewaschen, nicht geschält worden. 10 ccm des Preßsaftes in einem 1-Liter-Meßkolben mit 30 ccm 3 %iger kolloidaler Eisenoxydlösung und etwas Natriumsulfat enteiweißt, gaben nach Auffüllung auf 1 l ein wasserklares, eiweißfreies Filtrat, das im 18,94 cm langen Rohre die Ebene des Lichtes um + 0,28° drehte. Daraus berechnet sich für den ursprünglichen Saft eine Rohrzuckerkonzentration von 21,1 %.

Durch Kochen des Saftes wird die Drehung nicht verändert. Zur Inversion ließ man 10 ccm des Filtrates mit 90 ccm Wasser und 10 ccm $^n/_5$-Salzsäure $^1/_2$ Stunde auf dem Dampfbade. Nach der Abkühlung wurde in dem Inversionsgemisch die Menge des reduzierenden Zuckers nach Bertrand

bestimmt und mit der von 10 ccm des Filtrates vor der Inversion verglichen. Um auch die Änderung der Ablenkung des polarisierten Lichtes durch die Inversion kennen zu lernen, wurden 100 ccm des Filtrates mit 10 ccm $^{n}/_{5}$-Salzsäure $^{1}/_{2}$ Stunde auf dem Dampfbade erhitzt, das Volumen der Flüssigkeit auf 200 ccm ergänzt und die Drehung unter Berücksichtigung des Umstandes, daß die Zuckerlösung auf das Doppelte verdünnt war, gemessen. Die Resultate verschiedener Versuche finden sich in der folgenden Tabelle, in der, wie in allen folgenden, der Wert für reduzierenden Zucker in Kubikzentimeter $^{n}/_{20}$-Kaliumpermanganatlösung (1 ccm = 3,167 mg Kupfer) angegeben ist. Es wurden stets 10 ccm der nach Angabe verdünnten Lösung zur Bestimmung benutzt.

Tabelle I.

Nr.		Polarisationswert im 18,94-cm-Rohr		Bertrand-Wert	
		direkt	nach Inversion	direkt ccm	nach Inversion ccm
1	5 ccm Saft + 95 ccm Wasser .	+ 1,65°	—	4,4	—
2	Dasselbe aufgekocht	+ 1,70°	—	4,6	—
3	10 ccm Saft + 990 ccm Wasser	+ 0,28°	− 0,08°	1,1	14,5
4	Dasselbe aufgekocht	+ 0,29°	− 0,07°	1,2	14,3

Um über die Gegenwart bestimmter Enzyme Aufschluß zu erhalten, wurden folgende Versuche angestellt:

Urease. 20 ccm einer 1%igen Harnstofflösung wurden mit 5 ccm Preßsaft versetzt und unter Zusatz von Methylorange durch einige Tropfen $^{n}/_{10}$-Schwefelsäure neutralisiert. Eine gleiche Mischung wurde mit gekochtem Saft angesetzt. Durch das Kochen des Saftes entsteht ein Niederschlag, der nach Umschütteln mit in die Harnstofflösung gebracht wurde. Nach 24 Stunden war die nichtgekochte Probe deutlich ammoniakalisch geworden und gebrauchte 1,6 ccm $^{n}/_{10}$-Schwefelsäure zur Neutralisierung, die gekochte Kontrollprobe war neutral geblieben. Nach weiteren 24 Stunden hatte sich die Farbe beider Lösungen nicht mehr verändert. Die Versuche sind bei Zimmertemperatur angestellt. Es ist also ein Enzym vorhanden, das den Harnstoff, allerdings nur in geringem Umfange, zu spalten vermag.

Katalase und Peroxydase. Versetzt man eine Probe

des Saftes mit etwas Wasserstoffperoxyd, so zersetzt sich das letztere alsbald unter beträchtlicher Schaumbildung. Fügt man zu einer Mischung von Benzidin in Eisessig und Wasserstoffperoxyd einige Tropfen des Saftes hinzu, so erfolgt schnell intensive Blaufärbung. Die Probe auf ein harnsäurezerstörendes Enzym fiel negativ aus.

Diastase. Der Saft selbst zeigt gegenüber Jod keine Reaktion, die auf Stärke oder die höheren Abbauprodukte der Stärke schließen ließe. Trotzdem enthält er eine Diastase, die nach der Farbenreaktion gegenüber Jod jedenfalls ausreicht, die Spaltung bis zum Erythrodextrin durchzuführen, jedoch die Menge der reduzierenden Zucker nicht sehr wesentlich erhöht. Das zeigt sich in den Daten der Tabelle II.

Tabelle II.

Nr.		Dauer d. Einwirkg. Std.	Jodreaktion	Bertrand-Werte vor Inversion ccm	Bertrand-Werte nach Inversion ccm
1	25 ccm Stärkelösg. 5%, 10 ccm Saft	168	rot	10,7	47,3
2	Dasselbe gekocht	168	blau	3,4	39,8
3	25 ccm Stärkelösg., 10 ccm Wasser	168	„	0,9	0,9
4	25 ccm Wasser, 10 ccm Saft . . .	168	farblos	3,2	38,1

Invertase. Obgleich die reichliche Gegenwart von Rohrzucker in der Wurzel gegen die Tätigkeit einer Invertase zu sprechen scheint, so ist doch zu berücksichtigen, daß in Organen mit noch unversehrter Struktur häufig die Wirkung eines Enzyms kompensiert erscheint, das nach Zerstörung der Struktur die ihm eigenen Reaktionen herbeiführt. Für den Fall, daß die Bildung des Rohrzuckers in der Wurzel einem dort stattfindenden synthetischen Prozeß zuzuschreiben ist, muß sogar direkt mit der Anwesenheit einer Invertase gerechnet werden, die freilich, durch besondere Bedingungen gezwungen, in dem ihrer gewöhnlichen Wirkung entgegengesetzten Sinne statt invertierend synthetisch arbeitet. Die mit der Herstellung des Saftes verknüpfte Zerstörung dieser Bedingungen würde die Invertase wieder zu der Wirkungsform der Spaltung des Rohrzuckers zurückführen. So wurde zunächst untersucht, ob der Saft, sich selbst überlassen, eine Anreicherung an Invertzucker zeigt. Um sicher zu sein, daß das bei den Kontrollversuchen

notwendige Aufkochen des Saftes keine Spaltung hervorruft, wurde zunächst die Wirkung des Kochens auf den Saft mit dem schon mitgeteilten negativen Resultat untersucht.

Wurde nun eine Probe des Saftes 7 Tage lang unter Zusatz von etwas Toluol im geschlossenen Gefäß im Brutschrank bei 37° gelassen, so war gegenüber der Kontrollprobe eine beträchtliche Inversion des Rohrzuckers eingetreten. Ebenso ließ sich die Gegenwart der Invertase feststellen, als eine Mischung des Saftes mit Rohrzucker die gleiche Zeit im Brutschrank gehalten wurde.

Tabelle III.

Nr.		Dauer d. Einwirkg. Std.	Polarisation	Bertrand-Wert ccm	Bemerkungen
1	5 ccm Saft + Toluol	168	+ 0,03°	47,6	Zur Bearbeitung auf 100 ccm verd.
2	Dasselbe gekocht	168	+ 0,18°	22,2	do.
3	10 ccm Rohrzuckerlösg. 20%, 5 ccm Saft	168	+ 0,19°	39,8	Zur Bearbeitung auf 250 ccm verd.
4	Dasselbe gekocht	168	+ 1,60°	2,7	do.

Das Verhalten des Saftes gegenüber Invertase.

Bei der hohen Konzentration des Saftes an Rohrzucker war es erforderlich, um ein Gleichgewicht zugunsten einer Synthese in seiner Gegenwart herbeizuführen, mit großen Überschüssen von Invertzucker zu arbeiten. Es wurden deshalb die Versuche mit 20, 40 und 70%igen Invertzuckerlösungen ausgeführt. Diese Lösungen waren aus gleichen Gewichtsteilen reinster Dextrose und Lävulose hergestellt. In keinem Falle ließ sich eine Synthese durch Abnahme des reduzierenden Zuckers und durch Zunahme des durch Säuren hydrolysierbaren Zuckers feststellen. Das gleiche negative Resultat wurde erhalten, als der Invertzucker durch reine Traubenzuckerlösungen ersetzt wurde oder durch mit Säure invertierte und wieder neutralisierte Rohrzuckerlösungen. Eine Übersicht über die Resultate zeigt die folgende Tabelle.

Zu der Tabelle ist noch folgendes zu bemerken. Geringe Abweichungen in den Polarisations- und Titrationswerten müssen für die Deutung der Resultate ohne Einfluß bleiben, da bei den relativ langen Versuchszeiten nur größere Ausschläge eine

Tabelle IV.

Nr.		Dauer d. Einwirkg. Std.	Polarisation		Bertrand-Werte		Bemerkungen
			vor Inversion	nach Inversion	vor Inversion ccm	nach Inversion ccm	
1	20 ccm Invertzuckerlösg. 20%, 10 ccm Saft	168	+ 0,24°	—	—	—	Auf 1 l verd.
2	Dasselbe gekocht	168	+ 0,24°	—	—	—	do.
3	20 ccm Invertzuckerlösg. 20%, 10 ccm Wasser	168	— 0,15°	—	—	—	do.
4	25 ccm Invertzuckerlösg. 20%, 5 ccm Saft	120	— 0,10°	— 0,15°	36,7	37,6	Auf 1 l verd.
5	Dasselbe gekocht	120	— 0,05°	— 0,15°	31,7	37,8	do.
6	20 ccm Invertzuckerlösg. 40%, 10 ccm Saft	144	+ 0,06°	—	48,65	60,8	Auf 1 l verd.
7	Dasselbe gekocht	144	+ 0,03°	—	46,5	59,9	do.
8	20 ccm Invertzuckerlösg. 40%, 10 ccm Wasser	144	— 0,27°	—	44,4	44,4	do.
9	20 ccm Wasser, 10 ccm Saft	144	+ 0,29°	—	2,7	16,7	do.
10	Dasselbe gekocht	144	+ 0,31°	—	2,4	17,0	do.
11	20 ccm Invertzuckerlösg. 40%, 15 ccm Saft	144	+ 0,41°	— 0,30°	27,1	52,2	do.
12	20 ccm Invertzuckerlösg. 40%, 15 ccm Saft gekocht	144	+ 0,45°	— 0,32°	25,8	51,8	do.
13	20 ccm Invertzuckerlösg. 40%, 15 ccm Wasser	144	— 0,10°	— 0,09°	25,45	26,7	do.
14	20 ccm Invertzuckerlösg. 70%, 5 ccm Saft	216	— 0,20°	—	66,7	69,5	Auf 1 l verd.
15	Dasselbe gekocht	216	— 0,22°	—	65,7	67,8	do.
16	20 ccm Invertzuckerlösg. 70%, 5 ccm Wasser	216	— 0,25°	—	30,6	30,6	do.
17	15 ccm Invertzuckerlösg. 70%, 10 ccm Saft	384	+ 0,08°	—	60,8	76,3	Auf 1 l verd.
18	15 ccm Wasser, 10 ccm Saft	384	+ 0,39°	—	2,7	19,9	do.
19	15 ccm Invertzuckerlösg. 70%, 10 ccm Wasser	384	— 0,25°	—	57,9	57,9	do.
	20 ccm Traubenzuckerlösg. 70%, 5 ccm Saft	216	+ 1,58°	—	—	—	Auf 1 l verd.
21	Dasselbe gekocht	216	+ 1,58°	—	—	—	do.
22	20 ccm Traubenzuckerlösg. 70%, 5 ccm Wasser	216	+ 1,36°	—	—	—	do.
23	20 ccm Wasser, 5 ccm Saft	216	+ 0,18°	—	—	—	do.
24	15 ccm invertierte Rohrzuckerlösg., 10 ccm Saft	360	+0,16°	—	—	—	Auf 1 l verd.
25	Dasselbe gekocht	360	+0,16°	—	—	—	do.
26	15 ccm invertierte Rohrzuckerlösg., 10 ccm Wasser	360	—0,22°	—	—	—	do.
27	15 ccm Wasser, 10 ccm Saft	360	+0,39°	—	—	—	do.

bemerkenswerte Reaktion anzeigen. Im Versuch 4 macht sich eine geringe Inversion geltend, die im allgemeinen durch den

Zusatz der Spaltzucker, auch des Traubenzuckers allein, fast vollständig zum Stillstand zu kommen scheint. Bei den Versuchen 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 17, 18, 19 geht aus den Bertrand-Werten deutlich hervor, daß die Summe der Reduktionswerte des Saftes allein und des zugesetzten Zuckers allein vor und nach der Inversion mit den Versuchswerten übereinstimmt, daß also eine Verschiebung in der Zuckermischung während des Versuches nicht stattgefunden hat.

Die in den Versuchen 24, 25, 26 benutzte invertierte Rohrzuckerlösung war nach der Vorschrift von Wohl und Kohlrepp[1]) dargestellt worden: 100 g Rohzucker wurden mit 25 ccm Wasser und 0,01 g Salzsäure auf dem Wasserbade 1 Stunde erhitzt und nach dem Abkühlen 50 ccm Wasser und Soda bis zur neutralen Reaktion hinzugefügt. 15 ccm dieser Lösung, auf 1 l verdünnt, zeigten $\alpha_{18,94} = -0{,}23^0$. Da der zugesetzte Saft für sich in gleicher Verdünnung um $\alpha_{18,94} = +0{,}39^0$ drehte, so bemerkt man, daß die Versuchslösungen nach beendigter Einwirkung nur die Drehung dieser Mischung $+0{,}39 - 0{,}23 = +0{,}16^0$ zeigen, also auch hier eine Abnahme der Links- und eine Zunahme der Rechtsdrehung nicht stattgefunden hat.

Anwendung alkoholischer Lösungen.

Um die Bedingungen des Reaktionsmediums aus den in der Einleitung erörterten Gesichtspunkten zu verschieben, wurden zunächst Versuche mit alkoholischen Zuckerlösungen gemacht,

Tabelle V.

Nr.		Dauer der Einwirkung Std.	Polarisation	Bemerkungen
1	20 ccm 10 %ige Invertzuckerlösg. in 90 %igem Alkoh., 5 ccm Saft	240	+ 0,5°	Auf 250 ccm verdünnt
2	Dasselbe, Saft gekocht . .	240	+ 0,5°	do.
3	20 ccm Invertzuckerlösung, 5 ccm Wasser	240	− 0,19°	do.
4	20 ccm Wasser, 5 ccm Saft	240	+ 0,69°	do.

[1]) v. Lippmann, Chemie der Zuckerarten, I, 908. 3. Aufl. Braunschweig 1904.

die mit bestimmten Mengen des Saftes vermischt wurden. Nach den Versuchen von Bourquelot[1]) über die enzymatische Synthese von Glykosiden war es nicht ausgeschlossen, daß die Gegenwart von Alkohol, ohne die Invertase zu schädigen, die Synthese unterstützt.

Aus den Werten geht hervor, daß die Polarisation des Saftes, vermindert um die des Invertzuckers, genau mit der der gekochten und ungekochten Versuchsmischung übereinstimmt. Eine Änderung der Drehung ist durch die 240stündige Einwirkung überhaupt nicht eingetreten.

Entfernung des Rohrzuckers aus dem Safte.

Es erschien möglich, daß die reichliche Gegenwart von Rohrzucker im Saft jede Synthese verhindert, weil ein Gleichgewicht, das so zugunsten des Rohrzuckers liegt, wie es die im Saft vorhandene Konzentration erforderlich macht, trotz des Zusatzes großer Mengen Invertzucker nicht herbeiführbar ist. Es wurde darum versucht, den Rohrzucker aus dem Saft zu entfernen, und zwar dadurch, daß eine teilweise Ausfällung des Saftes mit einer Alkoholmenge ausgeführt wurde, die den Rohrzucker in Lösung ließ. Der bei Zusatz von $^1/_3$ Volum Alkohol nach 24stündigem Stehen auftretende graublaue Niederschlag wurde durch Zentrifugieren von der Flüssigkeit getrennt, nochmals mit Alkohol von der gleichen Konzentration durchgeschüttelt und abermals zentrifugiert. Der im Vakuum über Schwefelsäure getrocknete Niederschlag erwies sich als fast vollständig zuckerfrei, war aber größtenteils in Wasser unlöslich geworden. 0,5 g dieses Niederschlages, nach sorgfältigem Zerreiben in 25 ccm Wasser suspendiert, wurden nunmehr gegen 20- und 70$^0/_0$igen Invertzucker geprüft, ohne daß der Nachweis einer Synthese glückte. Daß der Niederschlag enzymatisch wirksam war, ließ sich aus dem positiven Ausfall der Katalasen- und Peroxydasenreaktion erkennen. Auch sprachen meine Erfahrungen mit anderen Invertasen dafür, daß, wenn eine solche vorhanden ist, sie, jedenfalls zum Teil, bei der Fällung mit Alkohol zur Ausscheidung gelangt. Die Resultate einiger Versuche zeigt die Tabelle VI.

---

[1]) Vgl. u. a. Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. **157**, 1024, 1914; Journ. pharm. Chim. [7] **9**, 441, 1914.

Tabelle VI.

Nr.		Dauer der Einwirkung Std.	Polarisation vor Inversion	Polarisation nach Inversion	Bertrand-Werte vor Inversion ccm	Bertrand-Werte nach Inversion ccm	Bemerkungen
1	10 ccm Invertzuckerlösg. 20%, 5 ccm Suspension	100	−0,10°	—	25,7	24,6	Auf 1 l verd.
2	Dasselbe gekocht	100	−0,10°	—	25,8	25,5	do.
3	15 ccm Invertzucker 70%, 5 ccm Suspension	216	−0,30°	—	58,5	58,9	Auf 1 l verd.
4	Dasselbe gekocht	216	−0,30°	—	58,5	58,9	do.
5	15 ccm Invertzucker 70%, 5 ccm Wasser	216	−0,34°	—	61,0	—	do.
6	15 ccm Wasser, 5 ccm Suspension	216	−0,04°	—	1,4	—	do.

Eine weitere Möglichkeit, den Rohrzucker aus dem Saft zu entfernen, war durch seine Vergärung mit Hefe gegeben. Es gelang in der Tat, 200 ccm Saft durch 48 stündige Gärung mit Hefe rohrzuckerfrei zu erhalten. Jedoch enthielt das Gemisch noch geringe Mengen Invertzucker, so daß die Invertase der Hefe schneller als die Zymase gewirkt hatte. Daß in der Hefe eine sehr wirksame Invertase vorhanden ist, ist bekannt und schon erwähnt; sie läßt sich leicht nachweisen, wenn man eine Suspension von Hefe in Wasser eine halbe Stunde bei 37° stehen läßt und das klare Filtrat gegenüber Rohrzucker prüft. Man findet dann eine starke Inversion, ohne daß dieses Filtrat imstande ist, eine alkoholische Gärung in nachweisbarem Umfange herbeizuführen. Die Resultate eines Versuches über die Hefeinvertase sind die folgenden:

Nr.		Dauer der Einwirkung Std.	Bertrand-Werte ccm	Bemerkungen
1	10 ccm Rohrzuckerlösg 20%, 3 ccm Hefelösung	168	46.7	Auf 250 ccm verdünnt
2	Dasselbe gekocht	168	2,9	do.

Durch die Anwendung der Hefe war also eine Hefeinvertase zu der bereits im Saft vorhandenen hinzugekommen, und zwar eine ungleich wirksamere. Es war deshalb zunächst von Interesse, ob es mit diesem rohrzuckerfreien und sicher invertasereichen Saft gelingt, eine Synthese des Rohrzuckers

aus Invertzucker hervorzurufen. Versuche unter Anwendung von 70%igem Invertzucker und Traubenzuckerlösungen verliefen aber bei 10tägiger Dauer vollkommen negativ, wie die folgenden Angaben zeigen.

Es wurden 200 ccm Rübensaft mit 10 ccm Hefelösung in 64 Stunden vollständig vergoren. 2 ccm des Filtrates, auf 100 ccm verdünnt, zeigten $\alpha_{18,94} = -0,25^{0}$, 10 ccm des Filtrates verbrauchten nach Bertrand vor der Inversion 8,45 ccm, nach der Inversion 9,10 ccm $^{n}/_{20}$-$KMnO_4$. Es waren also in diesem Falle neben Invertzucker nur noch Spuren Rohrzucker vorhanden. Der von der Hefe filtrierte Saft wurde verwandt.

Tabelle VII.

Nr.		Dauer der Einwirkung Std.	Polarisation	Bemerkungen
1	15 ccm Invertzucker 70%, 5 ccm Saft	240	$-0,42^{0}$	Auf 1 l verdünnt
2	Dasselbe, Saft gekocht . .	240	$-0,45^{0}$	do.
3	15 ccm Invertzucker, 5 ccm Wasser	240	$-0,33^{0}$	do,

Da 5 ccm Saft, auf 1 l mit Wasser verdünnt, eine Drehung $\alpha_{18,94} = -0,08^{0}$ zeigte, so berechnet sich für die Mischung mit dem Invertzucker $\alpha_{18,94} = -0,41^{0}$, was mit den direkt beobachteten Werten so weit übereinstimmt, daß die Bildung eines rechtsdrehenden Zuckers ausgeschlossen ist. Eine Wiederholung des Versuchs, bei dem einmal Invertzucker, dann auch Traubenzucker direkt in dem vergorenen Saft zu 70% gelöst wurde (kalt durch Schütteln), gab ebenso keinen Hinweis auf irgendeine Veränderung des Zuckers.

Versuche mit Rübenwurzelbrei.

Da es immerhin möglich war, daß es nicht gelingt, in dem Preßsaft die für die Enzymwirkung notwendigen Substanzen zu erhalten, so wurde auch die gesamte Rübenwurzelsubstanz zu Versuchen verwandt. Eine äußerlich abgewaschene und abgetrocknete Rübenwurzel läßt sich mit Hilfe der Reibe leicht in eine breiige Masse verwandeln, die durch gründliches Umrühren einen für die Versuche ausreichenden homogenen Zu-

stand erhält. Von diesem Brei wurden je 50 g mit 70%iger Invertzuckerlösung bei 37° und bei 55° angesetzt. Auch nach 11 tägiger Einwirkung hatte sich die Konzentration des Invertzuckers nicht verändert. Das gleiche negative Resultat wurde erhalten, wenn der Brei durch 4 tägige Behandlung mit Hefesuspension vom Rohrzucker vorher befreit worden war, obgleich in letzterem Falle die Hefeinvertase hätte mit in Aktion treten können.

Tabelle VIII.

Nr.		Dauer der Einwirkung Std.	Polarisation	Bertrand-Werte ccm	Bemerkungen
1	50 g Brei, 25 ccm Invertzuckerlösung 70%	264	+ 0,33°	51,75	Auf 2 l verdünnt
2	50 g Brei, 25 ccm Wasser . .	264	+ 0,54°	5,95	do.
3	50 ccm Wasser, 25 ccm Invertzucker	264	— 0,19°	46,15	do.

Diese bei 55° durchgeführten Versuche zeigen, daß die im Versuch beobachtete Drehung mit der Summe der Drehung des Saftes und des Invertzuckers übereinstimmt. Das gleiche gilt für die Bertrand-Werte. Ein Versuch bei 37°, 12 Tage durchgeführt, ergab das gleiche Resultat.

Zusammenfassung.

Die geschilderten Versuche sollen die Frage, ob eine Invertase auf den Invertzucker synthetisch wirken kann, nicht endgültig entscheiden. Denn die besprochenen Gesichtspunkte über die für eine solche Synthese günstigen Bedingungen sind durch die Versuche nicht vollständig erschöpft worden. Wohl aber scheinen sie mir in dem Sinne verwertet werden zu können, daß sie die Annahme, der Rohrzucker der Zuckerrübe bilde sich in der Wurzel aus dem Invertzucker, als äußerst unwahrscheinlich erscheinen lassen. Es liegt vielmehr eine wenn auch geringe Tendenz vor, den Rohrzucker nach und nach in der Wurzel zu spalten, so daß meine Versuche die Ansicht zu stützen scheinen, daß der in den Blättern der Zuckerrübe gebildete Rohrzucker als solcher in die Wurzel gelangt, die für ihn ein Depot bildet, aus dem der Zucker und

damit Energie, vielleicht in der Form von Invertzucker, nach dem Lebensbedarf der Pflanze entnommen werden kann.

B. Versuche mit den Invertasen der Hefe, des Pankreas und der Kefirknollen.

Die Gegenwart sehr wirksamer Invertasen in der Hefe und dem Pankreas bestimmte mich zu Versuchen über ihre Fähigkeit, aus Hexosen Disaccharid zu erzeugen. Ebenso veranlaßten mich die Beobachtungen über Glykosidsynthesen mittels der Kefirenzyme auch diese in den Kreis der Untersuchung zu ziehen. Die Resultate waren in allen Fällen negativ trotz der Ausdehnung der Versuchsdauer auf über $^1/_4$ Jahr.

Hefeinvertase.

A. Wróblewski[1]) fand in dem Filtrat einer mit Hefe vergärenden Rohrzuckerlösung das Gärungsvermögen aufgehoben, die invertierende Wirkung aber noch fortbestehend. Nach seinen Angaben soll die Hefeinvertase Invertzucker in geringem Maße invertieren. Aber die beobachteten Drehungsänderungen genügen nicht, um den Eintritt der Synthese sicherzustellen.

Für meine Versuche gewann ich die Hefeinvertase, frei von Zymase, durch $^1/_2$stündiges Stehenlassen einer Hefeemulsion in Wasser bei 37°, Zentrifugieren und Filtrieren. Das Filtrat ruft eine starke Hydrolyse des Rohrzuckers hervor:

Nr.		Dauer der Einwirkung Std.	Bertrand-Werte ccm	Bemerkungen
1	10 ccm Rohrzuckerlösg. 20%, 3 ccm Hefefiltrat	168	46,7	Auf 250 ccm verdünnt
2	Dasselbe gekocht	168	2,9	do.

Unter Verwendung der wirksamen Hefeinvertase schien es mir von besonderem Interesse, vornehmlich unter Berücksichtigung der Bourquelotschen Glykosidsynthesen in nicht wäßriger Flüssigkeit eine Verschiebung des Gleichgewichtes zugunsten einer Reversion mit Hilfe einer Milieuänderung zu erreichen. Ich benutzte zu diesem Zwecke Alkohol und Aceton; als Substrat diente reinster Invertzucker.

[1]) Journ. f. prakt. Chem. [2] 64, 1, 1901.

Um festzustellen, ob der Alkoholzusatz eine Veränderung der Inversionsgeschwindigkeit des Rohrzuckers veranlaßt, eine Bedingung, die zur Verschiebung des Gleichgewichtes notwendig, aber nicht ausreichend ist, wurden Rohrzuckerlösung und Hefeinvertase mit wechselnden Mengen angesetzt. Die Resultate sind die folgenden:

Tabelle IX.

Nr.		Dauer der Einwirkung Std.	Polarisation $\alpha_{18,94}$	Bertrand-Werte ccm	Bemerkungen
1	20 ccm Rohrzuckerlösg. + 5 ccm Hefefiltrat gekocht	216	+ 0,55°	2,1	Auf 1 l verdünnt
2	Dasselbe; Hefefiltrat ungekocht	216	− 0,12°	26,7	do.
3	Dasselbe + 5 ccm abs. Alkohol	216	− 0,06°	25,3	do.
4	Dasselbe + 10 ccm abs. Alkohol	216	+ 0,44°	3,0	do.
5	Dasselbe + 15 ccm abs. Alkohol	216	+ 0,51°	2,8	do.

Die Lösungen 3, 4 und 5 waren trüb, aber ohne deutlichen Niederschlag; ein größerer Alkoholzusatz erzeugte Rohrzuckerfällung. Man sieht aus den Versuchen deutlich, daß der Alkohol die Inversionsgeschwindigkeit bedeutend, und zwar in Abhängigkeit von seiner Konzentration, herabsetzt. Im letzten Versuch mit einem Alkoholgehalt von etwa 43 Volumprozent ist die Inversion fast vollständig zum Stillstand gekommen. Es

Tabelle X.

Nr.		Versuchsdauer Monate	Polarisation $\alpha_{18,94}$	Bemerkungen
1	20 ccm Invertzucker 20 % in 40 %igem Alkohol + 5 ccm Wasser	4	− 0,08°	Auf 1 l aufgefüllt
2	Dasselbe + 5 ccm Hefefiltrat gekocht	4	− 0,10°	do.
3	Dasselbe + 5 ccm Helfefitrat ungekocht	4	− 0,09°	do.
4	20 ccm Invertzucker 40 % in 40 %igem Alkohol + 5 ccm Wasser	4	− 0,14°	Auf 1 l aufgefüllt
5	Dasselbe + 5 ccm Hefefiltrat gekocht	4	− 0,14°	do.
6	Dasselbe + 5 ccm Hefefiltrat ungekocht	4	− 0,14°	do.

läßt sich auf Grund dieser Versuche natürlich nicht entscheiden, ob eine Schädigung der Invertase durch den Alkohol vorliegt, oder nur eine Hemmung, so daß bei genügend lang durchgeführtem Versuch doch ein endgültiger Gleichgewichtszustand erreicht würde. Jedenfalls wiesen die Versuche auf die Möglichkeit einer synthetischen Wirkung der Invertase in alkoholischen Flüssigkeiten hin. Dieselbe blieb aber trotz der durch die Beobachtungen nahegelegten, sehr langen Versuchsdauer aus.

Die Lösungen befanden sich während des Versuches im Brutschrank bei 37° in zugeschmolzenen Glasgefäßen und enthielten je 0,5 ccm Toluol. Die Polarisation, deren Werte durch Bertrand-Bestimmungen kontrolliert wurden, zeigen eindeutig, daß keine Spur einer Verschiebung im Sinne der Bildung einer rechtsdrehenden Substanz, wie sie die Reversion verlangt, stattgefunden hat.

Pankreas- und Kefirinvertase.

Die Pankreasinvertaselösung wurde durch 1 stündiges Schütteln von 5 g Schweinepankreastrockenpulver mit 100 ccm Wasser auf der Schüttelmaschine, Zentrifugieren und Filtrieren gewonnen. Die klare, gelbliche Lösung enthält eine auf Rohrzucker sehr wirksame Invertase, wie der folgende Versuch zeigt:

Nr.		Versuchsdauer Std.	Polarisation $\alpha_{18,94}$	Bertrand-Werte ccm	Bemerkungen
1	25 ccm Rohrzuckerlösung 20% 2,5 ccm Pankreaslösung gekocht	72	+ 0,63	1,5	Auf 1 l verdünnt
2	Daselbe, ungekocht . .	72	− 0,05	23,4	do.

Die Pankreatinlösung ist frei von Zucker, so daß bei ihr die Möglichkeit gegeben schien, unter günstigeren Verhältnissen, als bei dem Rübensaft, nach einer synthetischen Wirkung zu suchen. Es ließ sich aber unter Verwendung von Invertzucker, Traubenzucker und vollständig hydrolysierte Stärke und Maltose als Substrate der Eintritt einer Synthese nicht erkennen.

Die folgende Tabelle enthält die Ergebnisse der Einwirkung der Pankreatinlösung auf Invert- und Traubenzucker und Maltose.

Tabelle XI.

Nummer		Dauer d. Einwirkung Std.	Polarisation vor Inversion	Polarisation nach Inversion	Bertrand-Werte vor Inversion ccm	Bertrand-Werte nach Inversion ccm	Bemerkungen
1	20 ccm Invertzuckerlösg. 30 %, 5 ccm Pankr.	144	− 0,12°	—	18,5	—	Auf 1 l verd.
2	Dasselbe gekocht	144	− 0,12°	—	18,8	—	do.
3	15 ccm Invertzuckerlösg. 40 %, 5 ccm Pankr.	100	− 0,25°	—	—	—	Auf 1 l verd.
4	Dasselbe gekocht	100	− 0,25°	—	—	—	do.
5	15 ccm Invertzuckerlösg. 40 %, 5 ccm Wasser	100	− 0,25°	—	—	—	do.
6	20 ccm Traubenzuckerlösg. 20 %, 5 ccm Pankr.	144	+ 0,45°	—	27,4	—	Auf 1 l verd.
7	Dasselbe gekocht	144	+ 0,44°	—	26,8	—	do.
8	20 ccm Traubenzuckerlösg. 20 %, + 5 ccm Wasser	144	+ 0,45°	—	26,8	—	do.
9	15 ccm Traubenzuckerlösg. 70 %, 5 ccm Pankr.	336	+ 1,06°	—	—	—	Auf 1 l verd.
10	Dasselbe gekocht	336	+ 1,08°	—	—	—	do.
11	15 ccm Traubenzuckerlösg. 70 %, 5 ccm Wasser	336	+ 1,06°	—	—	—	do.
12	15 ccm Maltoselösg. 20 %, 20 ccm Wasser	Monate 4	+ 0,63°	—	9,2	—	Auf 1 l verd.
13	15 ccm Maltoselösg,, 15 ccm Wasser, 5 ccm Pankr. . . .	4	+ 0,62°	—	9,8	—	do.
14	15 ccm Maltoselösg., 15 ccm Aceton, 5 ccm Pankr. . . .	4	+ 0,62°	—	10,4	—	do.

In keinem Versuch ist eine Synthese nachweisbar. Der letzte wurde, um auch hier den Einfluß einer Milieuänderung zu prüfen, unter Zusatz von Aceton ausgeführt.

Die ungemein starke Wirksamkeit der Pankreas**diastase** veranlaßte den Versuch, mit ihrer Hilfe Stärke bis zum völligen Schwinden der Jodreaktion abzubauen, den Trockenrückstand der Hydrolyse in Alkohol zu lösen und festzustellen, ob mit der Pankreasinvertase, aber im alkoholisch-wäßrigen Medium ein synthetischer Vorgang eintritt. 200 ccm 5 %ige Stärkelösung wurden durch 5 ccm einer aus 5 g Pankreatin und 100 ccm Wasser gewonnenen Pankreatinlösung in 64 Stunden vollständig hydrolysiert. Der auf dem Dampfbad gewonnene Trockenrückstand löste sich in 100 ccm 40 %igem Alkohol bis auf einen aus dem Pankreatin stammenden sehr geringen Rest, von dem abfiltriert wurde. Diese Lösung wurde zum Versuch benutzt.

Nr.		Versuchs-dauer Std.	Polari-sation $\alpha_{18,94}$	Bertrand-Werte ccm	Bemerkungen
1	40 ccm Lösung, 5 ccm Pankreaslösg. gekocht . .	240	$+4,04^{\circ}$	57,7	Auf 250 ccm verdünnt
2	Dasselbe ungekocht . .	240	$+3,99^{\circ}$	59,4	do.

Auch hier ist das Ergebnis in bezug auf den Eintritt einer Synthese, die sich aus einer Änderung der Ablenkung und einer Verschiebung der Reduktionswerte hätte erkennen lassen müssen, vollständig negativ.

Nicht anders verliefen die Versuche mit der Kefirinvertase. Die Kefirknollen wurden mit 100 ccm Wasser und 1 ccm Toluol 3 Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt. Nach 20 stündigem Stehen erhielt man durch Zentrifugieren und Filtrieren eine klare, schwach gelblich gefärbte Flüssigkeit mit kräftig invertierenden Eigenschaften. Die einzelnen Ergebnisse zeigt die folgende Tabelle:

Tabelle XII.

Nr.		Versuchs-dauer Std.	Polari-sation $\alpha_{18,94}$	Bertrand-Werte ccm	Bemerkungen
1	10 ccm Rohrzuckerlösg. 20%, 5 ccm Wasser . .	336	$+0,35^{\circ}$	8,4	Auf 500 ccm verdünnt
2	Dasselbe, 5 ccm Kefirlösg.	336	$-0,11^{\circ}$	26,1	do.
3	10 ccm Invertzuckerlösg. 70%, 5 ccm Wasser . .	336	$-0,16^{\circ}$	—	Auf 1 l verdünnt
4	Dasselbe, 5 ccm Kefirlösg. gekocht	336	$-0,15^{\circ}$	—	do.
5	Dasselbe, 5 ccm Kefirlösg. ungekocht	336	$-0,15^{\circ}$	—	do.
6	20 ccm Invertzucker 40% in 40% igen Alkohol + 5 ccm Wasser . . .	Monate 4	$-0,10^{\circ}$	—	Auf 1 l verdünnt
7	Dasselbe + 5 ccm Kefirlösg. gekocht	4	$-0,10^{\circ}$	—	do.
8	Dasselbe + 5 ccm Kefirlösg. ungekocht	4	$-0,10^{\circ}$	—	do.

Eine Inversion der Versuchslösung 2 mit Salzsäure ergab für 10 ccm des Filtrates der auf 500 ccm verdünnten Mischung einen Bertrand-Wert von 25,8 ccm, gegenüber 26,1 ccm vor der Inversion. Daraus geht hervor, daß die Rohrzuckerhydrolyse

durch die Kefirinvertase eine vollständige ist, das Gleichgewicht also praktisch bei der Rohrzuckerkonzentration 0 liegt.

Zusammenfassung.

Wie die Invertase der Zuckerrübenwurzel, so erwiesen sich auch die Invertasen der Hefe, des Pankreas und der Kefirknollen als unfähig, unter den gewählten Versuchsbedingungen die Synthese des Rohrzuckers aus Hexosen herbeizuführen.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

24. Mitteilung.

Fortgesetzte Beiträge zur Lehre von der Funktion der Milz.

Das Zusammenwirken von Leber und Milz.

Von

Gustav Ebnöther.

(Eingegangen am 23. November 1915.)

Zusammenwirken von Leber und Milz.

In einer Reihe vorausgegangener Arbeiten haben Asher und seine Mitarbeiter Großenbacher, Zimmermann und Vogel die Lehre aufgestellt und bewiesen, daß die Milz ein Organ des Eisenstoffwechsels sei. Die Milz hat die Funktion, Eisen, das im Stoffwechsel frei wird, dem Organismus zu erhalten, denn wie sie fehlt, scheidet das Tier, bzw. der Mensch, abnorme Mengen von Eisen aus. Diese Lehre ist seit der Veröffentlichung der genannten Arbeiten vielfach bestätigt worden Am Menschen haben die schönen Arbeiten von Bayer in der Klinik von Garrè vollinhaltlich die Lehre bekräftigt und derselben bemerkenswerte Erweiterungen gebracht. Auch von Roth in Zürich sind einschlägige Beobachtungen mitgeteilt worden. Nach einer ganz anderen Seite hin haben Untersuchungen von Aschoff und seinen Schülern sowie von M. B. Schmidt auf dem Boden der histologischen Technik die Ashersche Lehre bekräftigt. Die Beziehungen zwischen Eisenstoffwechsel und Milz sind demnach weitgehend klargelegt worden. Natürlich erheben sich eine Reihe von neuen Fragen, die sich sofort aufdrängen, wenn man den neuen Stand der Dinge in Erwägung zieht. Ich erwähne hierbei beispielsweise die Frage nach der Abstammung des Eisens, das von der Milz dem Körper erhalten wird, und nach der Art und Weise, wie dieses dem Körper erhaltene Eisen weiter verwertet wird.

Es gibt aber noch eine ganz andere Seite der Milzfunktion, die von jeher Gegenstand eifriger Erörterungen gewesen ist: das ist die hämolytische Funktion der Milz. Von besonderem Interesse ist diese letztgenannte Funktion für den Kliniker geworden, seitdem man bei gewissen Erkrankungen die Milzexstirpation empfohlen hat, um eine abnorm hohe Hämolyse zu beseitigen. Von physiologischer Seite liegt manches vor, was für die hämolytische Funktion der Milz zu sprechen scheint. Als beachtenswerteste Tatsache sei der Befund von Pugliese angeführt, daß nach Entfernung der Milz weniger Gallenfarbstoff gebildet wird, als beim normalen Tiere. Sollberger hat im Anschluß an die genannten Arbeiten in diesem Laboratorium auch die hämolytische Funktion der Milz in den Kreis der Untersuchungen eingezogen. Er konnte auf eine Reihe von Tatsachen hinweisen, die unter der Annahme einer hämolytischen Funktion der Milz sich zureichend erklären lassen. Die Erkenntnis der hämolytischen Funktion der Milz wird jedoch erschwert durch Kompensationseinrichtungen, die im Organismus vorhanden sind. Sollberger hat das Walten dieser Kompensationsvorrichtungen eingehend untersucht und durch besondere experimentelle Anordnungen klar zutage treten lassen. Man kann sagen, daß das Bild beim milzlosen Tiere ganz von den Symptomen der Kompensationsvorgänge beherrscht wird. Die Kompensationsvorgänge sind so vorherrschend, daß gerade aus diesem Grunde besondere Methoden ersonnen werden mußten, um überhaupt die spezifischen Milzfunktionen zutage treten zu lassen. Die große Leichtigkeit, mit der diese Kompensationsvorgänge eintreten und die Wirksamkeit derselben weist uns zwingend darauf hin, daß eine wesentliche Seite der Milzfunktion zu suchen sein wird in ihrem Zusammenwirken mit anderen Organen. Sowie man sich auf den Standpunkt stellt, daß es möglicherweise eine Aufgabe der Milz sei, regelnd in die Funktion anderer Organe einzugreifen, in Funktionen, die ganz wohl selbständig für sich ablaufen können und wo die Milz nur modifizierend eingreift, klärt sich vieles auf, was bisher an der Milz dunkel war. Die biologische Anordnung der Milz weist auf derartige Zusammenhänge hin. Die Milz ist eingeschaltet in den Pfortaderkreislauf, und ohne einen Ausführungsgang zu

besitzen, gibt sie ihr Blut zunächst an die Leber ab. Es ist daher naheliegend, anzunehmen, daß diese Tatsache einen biologischen Sinn hat, daß von der Milz ein Etwas an die Leber abgegeben werde, was die Leber veranlassen könnte, anders zu arbeiten, als ohne dieses Etwas. Die oben genannte Tatsache von Pugliese deutete ja schon nach dieser Richtung. Es ist neuerdings von verschiedenen Autoren, die sehr interessante Tatsache gefunden worden, daß die autolytischen Leistungen der Leber in anaphylaktischem Zustand ganz anders verlaufen, wenn vorher die Milz entfernt wurde.

Die von Sollberger ins Licht gerückten Kompensationserscheinungen, sowie namentlich die vorgetragenen biologischen Erwägungen schienen es ratsam zu machen, das Zusammenwirken von Milz und Leber mit Hilfe von neuen Methoden einer besonderen Untersuchung zu unterziehen, und ich bin daher gerne der Aufforderung von Prof. Asher gefolgt, das Zusammenwirken von Leber und Milz nach einem neuen Versuchsplane experimentell zu untersuchen.

Das gestellte Problem sollte nach zwei Seiten hin bearbeitet werden. Die erste Frage war die, ob etwa die hämolytische Funktion der Leber, die man annehmen muß, weil auch ohne Milz Gallenfarbstoff entsteht, durch die Milz gesteigert wird. Diese erste Frage erfordert als Vorarbeit die Untersuchung der Hämolyse, durch die Leber und durch die Milz allein. Die zweite und ganz andere Frage war die, ob die etwaige Hämoglobin zerstörende Funktion der Leber durch die Milz beeinflußt werde, wobei gleichzeitig als Voruntersuchung der Einfluß von Leber und Milz getrennt auf Hämoglobinlösung zu prüfen war. Diese beiden durchaus verschiedenen Aufgaben erforderten natürlich zwei ganz verschiedene Methoden, die ich im nachfolgenden darlegen werde.

Bis auf wenige Ausnahmen stützen sich die bisherigen Angaben, welche die Milzfunktion betreffen, auf Versuche, die am lebenden Tiere nach vorheriger Milzexstirpation gemacht worden sind. Um dem Umstand der Kompensationserscheinungen, die uns die zahlreichen Widersprüche der Literaturangaben erklären, vorzubeugen, wurden diesmal Versuche mit Organextrakten angestellt. Diese neue Versuchsanordnung ist zwar nicht so elegant als diejenigen an lebenden Tieren, dafür

erlaubte sie aber jede unerwünschte und störende Nebenwirkung auszuschalten.

I. Teil.

In diesem ersten Kapitel werden die Versuche, die uns den ersten Teil unserer Aufgabe aufklären sollen, nämlich die Frage des Einflusses der Milz auf die Blutzerstörung durch die Leber, auseinandergesetzt und besprochen.

Bei der Vorbereitung der Extrakte handelt es sich darum, möglichst blutfreie Präparate zu bekommen. Zu diesem Zwecke wurden etwa 150 bis 200 g Milz fein zerhackt, genau gewogen und mit doppeltem Gewicht 0,9 $^0/_0$iger Kochsalzlösung versetzt. In gleicher Weise wurde auch die Leber verarbeitet. Nachdem die Kochsalzlösung genügend auf Milz und Leber eingewirkt hatte, wurden die Extrakte in passende Zentrifugiergläschen abgeschüttet und sorgfältig zentrifugiert (3 bis 4 Stunden). Trotzdem zeigte die Milz immer noch eine deutliche Rotfärbung, herrührend von gelöstem Hämoglobin.

Als Vorversuch sollte geprüft werden, bei welcher Kochsalzlösung die erste Andeutung einer Hämolyse auftritt. Da es sich in unseren Versuchen nicht um streng quantitative Messungen handelte, wurden die Kochsalzlösungen jeweilen um 0,1 $^0/_0$ verschieden gewählt. Es wurden 40 ccm 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 $^0/_0$ Natriumchloridlösungen mit 0,5 ccm Blut versetzt, einige Stunden stehen gelassen und dann zentrifugiert. Es zeigte sich, daß erst nachdem man zentrifugiert hatte, ein sicheres Urteil gegeben werden konnte; dies gilt besonders für die eigentlichen Versuche mit den Organextrakten.

Folgende Tabelle zeigt die gefundenen Resultate:

Blut	40 ccm NaCl-Lösung	
0,5 ccm	0,5 $^0/_0$	sehr starke Hämolyse
0,5 ccm	0,6 $^0/_0$	starke Hämolyse
0,5 ccm	0,7 $^0/_0$	schwache Hämolyse
0,5 ccm	0,8 $^0/_0$	keine Hämolyse
0,5 ccm	0,9 $^0/_0$	keine Hämolyse

Diese Resultate wurden zweimal nachgeprüft und bestätigt. Es wird vielleicht auffallen, daß die Hämolyse schon bei 0,7 $^0/_0$iger NaCl-Lösung eintritt, während im allgemeinen die roten Blutkörperchen eine noch größere Verdünnung ertragen. Dieser Umstand rührt davon her, daß das Blut nicht ganz

frisch gewonnen wurde, manchmal bis 3 Tage alt war, aber da es sich für uns nur um vergleichende Versuche handelt, wurde nichts getan, um die Resistenzverminderung der Erythrocyten zu vermeiden.

Zur Vorbereitung der Extrakte dienten uns meistens die Milz und Leber von einem Ochsen; sie wurden so frisch als möglich genommen und zweimal wöchentlich neu präpariert. Ein einziges Mal haben wir von einem in dem Institut operierten und getöteten Hunde die Organe verarbeitet.

Wie es in der Einleitung angegeben worden ist, handelte es sich bei jeder Versuchsreihe darum, Proben mit Leberextrakt allein, mit Milzextrakt allein und dann erst mit einer Kombination beider und zwar in wechselnden Verhältnissen herzustellen.

Die Versuche wurden gewöhnlich am Nachmittag angesetzt und am anderen Vormittage zentrifugiert.

Die drei ersten Versuchsreihen sind vollständigkeitshalber mit den anderen am Ende dieses Kapitels angegeben, aber wir möchten ihnen nicht den gleichen Wert zuschreiben, weil sie nicht dem unentbehrlichen Zentrifugieren unterworfen worden sind. Wir glauben, daß darin der Grund des Auftretens der nicht übereinstimmenden Resultate liegt.

Aus den Tabellen geht hervor, daß meistens 36 ccm Kochsalzlösung 4 ccm Extrakte und 0,5 ccm Blut zusammengebracht wurden.

Um leicht einen Gesamtüberblick zu verschaffen, werden alle Protokolle unserer Versuchsreihen an das Ende des Kapitels hinausgeschoben, während jetzt kurz die Hauptergebnisse derselben besprochen werden sollen.

In den Proben mit Milz wurde hier und da eine schwache Hämolyse, öfter aber keine festgestellt, so daß wir behaupten können, daß man bei unserer Versuchsanordnung in vitro keine hämolysierenden Stoffe in den Milzextrakten nachzuweisen vermag. Übrigens sind schon früher gleiche negative Befunde in der Literatur angegeben worden, die sich auch auf Versuche mit Milzextrakten stützen. Wir fühlen uns um so mehr berechtigt, diese Behauptung aufzustellen, daß man meistens die schwache Hämolyse in den Milzproben der Färbung des Extraktes selbst zuschreiben kann.

Eine Resistenzverminderung der roten Blutkörperchen, die nach gewissen Autoren durch die Milz verursacht sein sollte, konnten wir nicht nachweisen. Eine Herabsetzung des Widerstandes der Erythrocyten gegenüber hypotonischen Kochsalzlösungen, wie sie neuerdings Strisower und Goldschmidt in ihren Durchblutungsversuchen der Milz nachgewiesen haben, kann natürlich mit unserer Methode nicht hervortreten, da wir uns nicht speziell in dieser Richtung bemühten. Immerhin können wir behaupten, daß ihr keine wesentliche Rolle zukommt in der hämolytischen Funktion der Milz. Wenn wir einige Male bei 0,7 % Kochsalzlösung eine geringe Verstärkung der Hämolyse bei Milzextraktzusatz hervorrufen konnten, ist sie ebensooft ausgeblieben. Ob eine Verminderung der osmotischen Resistenz der Erythrocyten von 0,48 auf 0,5 (von Strisower und Goldschmidt angegeben) eine wichtige Rolle der Milz im Haushalt des Organismus ist, möchten wir bezweifeln. Diese Funktion würde jedenfalls neben den anderen festgestellten desselben Organs weit zurückbleiben. Wir kommen weiter noch einmal auf diese Frage zurück.

Wie zu erwarten war, bekamen wir in den Proben mit Leberextrakt ausnahmlos eine starke Hämolyse.

Nach diesen Vorversuchen waren wir in der Lage, zu urteilen, welches der Einfluß von Milzextrakt auf Leberextrakt betreffs Hämolyse war. Hier fanden wir die bemerkenswerte Tatsache, daß, wenn Milz- und Leberextrakt gleichzeitig auf eine Kochsalzblutaufschwemmung einwirken, man nicht eine Hämolyse bekommt, die etwa einen Mittelwert zwischen den festgetellten Teilhämolysen der beiden Komponenten beträgt, sondern eine auffallend verstärkte Blutkörperchenzerstörung, die sich in einer intensiven roten Färbung der Probeflüssigkeiten kundgibt. Daß die Beschleunigung keine geringe ist, zeigt uns in den folgenden Tabellen die Tatsache, daß 2 ccm Milzextrakt die Hämolyse durch 2 ccm Leberextrakt so stark erhöht, daß sie bedeutender wird als diejenige, die durch 4 ccm des letztgenannten Extraktes hervorgerufen wird. Wenn in einigen Fällen angegeben wird, daß die Hämolyse durch 4 ccm Leberextrakt diejenige durch 2 ccm Milzextrakt + 2 ccm Leberextrakt übertrifft, kann das nicht als Widerspruch angesehen werden, denn in jedem Falle ist sie doch stärker als

man sie erwarten würde, wenn keine Aktivierung des einen durch den anderen Extrakt stattgefunden hätte. Für eine indifferente Beteiligung beider Organe würde sprechen eine Hämolyse, die in den Proben mit 4 ccm Leberextrakt doppelt so stark wäre als diejenige, wo 2 ccm Milzextrakt + 2 ccm Leberextrakt auf das Blut einwirkten, da festgestellt wurde, daß Milz in vitro keine selbständige hämolysierende Kraft besitzt. In unseren Versuchen sind die Verhältnisse besonders bei Brutofentemperatur manchmal gerade umgekehrt.

Auf diese interessante Tatsache, daß in der Milz ein Stoff als Aktivator auf die hämolysierende Tätigkeit der Leber wirkt, kommen wir später noch einmal zurück zur Erklärung von gewissen Ausfallserscheinungen, die von anderer Seite nach Milzexstirpation beschrieben werden.

Die ersten zu diesen Resultaten führenden Versuche wurden bei Zimmertemperatur gemacht. Später, zwecks einer Beschleunigung der Vorgänge, wurden die Proben einige Stunden in den Brutofen gestellt. Die Unterschiede traten gewöhnlich noch deutlicher hervor, trotzdem eine bedeutende, von bloßem Auge wahrnehmbare Hämoglobinzerstörung stattgefunden hatte. Diese Eigenschaft der Milz- und Leberextrakte, Hämoglobin zu spalten, wird uns im zweiten Teil unserer Arbeit eingehend beschäftigen.

Nachdem wir diese Versuche mit Kochsalzextrakten ausgeführt hatten, versuchten wir, durch gewisse Änderung in der Vorbereitung der Extrakte der chemischen Zusammensetzung der aktiven Stoffe näher zu kommen. Man konnte beispielsweise, durch anhaltendes Kochen der Kochsalzextrakte, die Eiweißkörper und die Fermente ausschalten, die ersten wurden durch die Hitze gefällt, die letzteren inaktiv gemacht. Das Kochen wurde auf dem Wasserbad vorgenommen. Die Extrakte waren nach dem Filtrieren klare, durchsichtige Flüssigkeiten. Die Milzextrakte zeigten eine schwache gelbliche Verfärbung. Stellte man mit diesen gekochten Organextrakten Versuche an, so konnte man einen vollständigen Ausfall der Hämolyse sowohl bei den getrennten Extrakten als bei der Kombination beider beobachten. Der Einfluß eines solchen Milzextraktes auf den ungekochten Leberextrakt war ebenfalls durch das Kochen verschwunden. Demnach sind der hämolysierende Körper der Leber und der Aktivator der Milz beide kochunbeständig.

Man hätte daran denken können, daß die Hämolyse durch den Leberextrakt der anwesenden Galle zuzuschreiben sei. Um diesen Einwand zu widerlegen, wurden mit Ochsengalle Versuche gemacht, die ergaben, daß weder durch ungekochte, noch durch gekochte Galle eine Zerstörung der roten Blutkörperchen erzielt wird. Die Konzentration wurde so gewählt, daß sie zweifellos diejenige der etwa in dem Leberextrakt vorkommenden Galle bedeutend übertraf.

Die negativen Resultate mit gekochten Extrakten veranlaßten uns, anstatt mit Kochsalzlösung mit Aceton und Äther zu extrahieren. Es wurde folgendermaßen vorgegangen: wie früher wurden die Organe fein zerhackt und mit bestimmten Mengen der genannten Flüssigkeiten versetzt. Am folgenden Tage wurde abfiltriert, die Trockensubstanz noch einmal mit Äther versetzt und ein zweites Mal durch den Filter gelassen. Beide Teile, der Acetonätherextrakt und das Filtrat, unterzogen wir dann einer weiteren Verarbeitung.

Die nach Behandlung mit Aceton und Äther übrig gebliebene feste Substanz wurde langsam ausgetrocknet, ohne zu erhitzen, und mit Kochsalzlösung extrahiert. Versuche mit diesen Präparaten ergaben ein vollständiges Ausbleiben jeder Hämolyse, was schließen läßt, daß weder die hämolysierenden Stoffe der Leber, noch der Aktivator der Milz in den so gewonnenen Extrakten vorhanden waren. Die einzelnen Resultate sind in den folgenden Protokollen zu finden.

Die Acetonätherextrakte wurden im Brutofen ausgedampft, wobei darauf geachtet werden mußte, daß die Temperatur nicht zu hoch stieg, um eine Eiweißgerinnung zu vermeiden. Der Rückstand wurde mit Natriumchloridlösung aufgenommen und nach mehrstündigem Stehen abfiltriert. Bei den Versuchen gewannen wir die in den Protokollen angegebenen Resultate, nämlich nicht die geringste Andeutung einer Hämolyse.

Wären die in Frage kommenden Stoffe der Leber und der Milz Lipoide, so würde man ihre Anwesenheit in den Acetonätherextrakten erkennen. Wir wollen vorläufig diese von der physiologischen Chemie zu beantwortende Frage unerledigt lassen. Nach unseren Untersuchungen kann behauptet werden, daß es sich sehr wahrscheinlich bei der Leber und der Milz um einen Eiweißkörper oder ein Ferment handelt, die durch das Kochen

und durch Äther oder Aceton verändert oder unaktiv gemacht werden.

Mit der Erkenntnis dieser neuen Funktion der Milz drängte sich eine Frage auf, nämlich: ist diese Aktivierung der hämolytischen Kraft der Leber durch die Milz eine spezifische Eigenschaft dieses Organes oder kommt sie in vitro anderen Drüsen oder Organextrakten auch zu? Leider verhinderte uns der Zeitmangel, bei mehreren Organen diese Frage nachzuprüfen. Wir glauben uns trotzdem berechtigt, die von uns festgestellte Tatsache, daß Lungenextrakt in keinem Sinne die hämolytische Tätigkeit der Leber beeinflußt, als Beweis für die Spezifität der erkannten hämolytischen Funktion der Milz anzusehen, und zwar sprechen unsere gesamten Versuche nicht für eine schädigende Wirkung auf die Erythrocyten, die ihre vollständige Zerstörung durch die Leber erleichtern würde, sondern für eine direkte Aktivierung der Leberhämolyse durch die Milzprodukte.

Gestützt auf die vorstehenden Untersuchungen können folgende Schlüsse und Folgerungen zusammengestellt werden:

1. Die Milz hat keine selbständig hämolysierenden Stoffe.

2. Die Widerstandsfähigkeit der roten Blutkörperchen gegenüber hypotonischen Kochsalzlösungen wird durch Milzextrakt nicht herabgesetzt, wenigstens nicht in dem Maße, daß dadurch die vermehrte Hämolyse beim Zusammenwirken von Leber und Milzextrakt erklärt werden könnte.

3. Leberextrakt verursacht eine starke Hämolyse.

4. Der Einfluß des Milzextraktes auf den Leberextrakt zeigt sich in einer beträchtlichen Erhöhung der Hämolyse. Da keine direkte Wirkung auf die Blutkörperchen seitens der Milz zu erkennen ist, müssen wir zwingend annehmen, daß ein Aktivator vorhanden ist, der auf die hämolysierenden Stoffe der Leber verstärkend einwirkt.

5. Durch das Kochen werden die Hämolyse durch die Leber und die verstärkende Wirkung des Milzextraktes zum Verschwinden gebracht.

6. Die Wirkung der mit Kochsalzlösung aufgenommenen, ausgedampften Acetonätherextrakte auf eine Kochsalz-Blutaufschwemmung ist, was Hämolyse anbelangt, diejenige indifferenter Körper.

7. Wenn man die feste Substanz, die nach Behandlung mit Aceton und Äther von den zerhackten Organen zurückbleibt, mit Natriumchloridlösung extrahiert, bekommt man Extrakte, die weder die Hämolyse durch die Leber noch die verstärkende Wirkung der Milz zutage treten lassen. Daraus kann man schließen, daß es sich wahrscheinlich um Eiweißkörper oder Fermente handelt, die durch Aceton oder Äther geschädigt werden.

8. Die Galle, in Konzentrationen wie sie im Leberextrakt vorkommt, sowohl ungekocht als gekocht zeigt keine Hämolyse. Sie wird also nicht im Leberextrakt störend wirken.

9. Der Einfluß der Milz auf die Leber ist ein ganz spezifischer, denn Lungenextrakt vermag nicht die hämolytische Tätigkeit des Leberextraktes zu verändern, weder in einem noch im anderen Sinn.

Versuchsprotokolle.

Vorversuch.

Blut	40 ccm NaCl-Lösung	
1. 0,5 ccm	0,9 %	keine Hämolyse
2. 0,5 ccm	0,8 %	keine Hämolyse
3. 0,5 ccm	0,7 %	schwache Hämolyse
4. 0,5 ccm	0,6 %	starke Hämolyse

Versuche mit Kochsalzlösungsextrakten.

I. Zimmertemperatur.

Versuch 1.

Blut	NaCl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	deutliche Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	deutliche Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	schwache Hämolyse

Hämolyse: $M + L = M > L > NaCl$.

Versuch 2.

Blut	NaCl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	eine Spur von Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	deutliche Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	starke Hämolyse

Hämolyse: $M + L > L > M > NaCl$.

Versuch 3.

Blut	NaCl 0,5 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	eine Spur von Hämolyse
0.5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	deutliche Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	fast keine Hämolyse

Hämolyse: M + L > M > L > NaCl.

Diese drei Versuche sind nicht maßgebend, weil nicht zentrifugiert.

Versuch 4.

Blut	NaCl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	sehr schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	sehr starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	starke Hämolyse

Hämolyse: M + L > L > M > NaCl.

Versuch 5.

Blut	NaCl 0,7 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	etwas schwächere Hämolyse

Hämolyse: M + L > L > M = NaCl.

Versuch 6.

Blut	NaCl 0,7 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	deutliche Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	deutliche Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	etwas schwächere Hämolyse

Hämolyse: M + L > L > M = NaCl.

Versuch 7.

Blut	NaCl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	eine Spur einer Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	etwas schwächere Hämolyse

Hämolyse: M + L > L > NaCl > M.

Versuch 8.

Blut	NaCl 0,7 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	3 ccm M + 1 ccm L	deutliche Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	sehr starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	starke Hämolyse

Hämolyse: $M_1 L_3 > L > M_2 L_2 > M_3 L_1 > M = $ MaCl.

Versuch 9.

Blut	NaCl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	3 ccm M + 1 ccm L	sehr schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	sehr starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	schwache Hämolyse

Hämolyse: $M_1 L_3 > M_2 L_2 > L > M_3 L_1 > M = NaCl$.

Versuch 10.

Blut	NaCl 0,9 %	Extrakte	
1 ccm	34 ccm	6 ccm Milz	schwache Hämolyse
1 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	schwache Hämolyse
1 ccm	36 ccm	3 ccm M + 1 ccm L	ziemlich starke Hämolyse
1 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	ziemlich starke Hämolyse
1 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	starke Hämolyse
1 ccm	36 ccm	1/2 ccm M + 3 1/2 ccm L	starke Hämolyse
1 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	starke Hämolyse
1 ccm	34 ccm	6 ccm Leber	sehr starke Hämolyse

Hämolyse: $L_6 > M_{1/2} L_{3^1/_2} > M_1 L_3 > L_4 > M_3 L_1 = M_2 L_2 > M_4 = M_6$.

Versuch 11.

Blut	NaCl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	sehr starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	starke Hämolyse

Hämolyse: $M_2 L_2 > M_1 L_3 = L_4 > M_4 = NaCl$.

Versuch 12.

Blut	NaCl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	sehr schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	sehr starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	starke Hämolyse

Hämolyse: $M_1 L_3 > M_2 L_2 > L_4 > M_4 > NaCl$.

Versuch 13.

Blut	NaCl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	sehr starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	sehr starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	starke Hämolyse

Hämolyse: $M_1 L_3 > M_2 L_2 > L_4 > M_4$.

Versuch 14.

Blut	Na Cl 0,9 %	Extrakte (Milz gek.; Leber ungek.)	
0,5 ccm	40 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	sehr schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	ziemlich starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	starke Hämolyse

Hämolyse: $M_1 L_3 = L_4 > M_2 L_2 > M_4 >$ Na Cl.

Versuch 15.

Milz ungekocht; Leber gekocht.

Blut	Na Cl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	keine Hämolyse

Hämolyse: vollständig ausgeblieben.

Versuch 16.

Milz gekocht; Leber gekocht.

Blut	Na Cl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	keine Hämolyse

Versuch 17.

Milz gekocht; Leber gekocht.

Blut	Na Cl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	keine Hämolyse

Versuch 18.

Milz ungekocht; Leber gekocht.

Blut	Na Cl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	keine Hämolyse

Versuch 19.

Milz ungekocht; Leber gekocht.

Blut	Na Cl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	keine Hämolyse

Versuch 20.

Milz gekocht; Leber ungekocht.

Blut	Na Cl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	deutliche Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	sehr starke Hämolyse

Hämolyse: $L_4 > M_1 L_3 > M_2 L_2 > M_4 = \text{Na Cl}$.

Versuch 21.

Milz ungekocht; Leber gekocht.

Blut	Na Cl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	keine Hämolyse

II. Brutofentemperatur 40°.

Versuch 22.

Blut	Na Cl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	eine Spur stärkere Hämolyse des bei $M_2 L_2$

Hämolyse: $L_4 > M_2 L_2 > M_4 > \text{Na Cl}$.

Versuch 23.

Blut	NaCl 0,7 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	ziemlich starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	starke Hämolyse

Hämolyse: $L_4 > M_2 L_2 > M_4 = \text{NaCl}$.

Versuch 24.

Blut	MaCl 0,6%	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	sehr starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	starke Hämolyse

Hämolyse: $M_2 L_2 > L_4 > MaCl > M_4$.

Versuch 25.

Blut	NaCl 0,8%	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	deutliche Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	sehr starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	starke Hämolyse

Hämolyse: $M + L > L > M > MaCl$.

Versuch 26.

Blut	NaCl 0,9%	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	sehr starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	starke Hämolyse

Hämolyse: $M + L > L > M = MaCl$.

Versuch 27.

Blut	NaCl 0,8%	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	ziemlich starke Hämolyse

Hämolyse: $M + L > L > M = NaCl$.

Versuch 28.

Blut	NaCl 0,7%	Extrakte	
1 ccm	40 ccm	—	deutliche Hämolyse
1 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	schwache Hämolyse
1 ccm	36 ccm	2 ccm M + 1 ccm L	starke Hämolyse
1 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	starke Hämolyse

Hämolyse: $M + L = L > MaCl > M$.

Versuch 29.

Blut	NaCl 0,9%	Extrakte	
1 ccm	40 ccm	—	sehr schwache Hämolyse
1 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	sehr schwache Hämolyse
1 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	starke Hämolyse
1 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	ziemlich starke Hämolyse

Hämolyse: $M + L > L > MaCl = M$.

Versuch 30.

Blut	NaCl 0,7%	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	3 ccm M + 1 ccm L	schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	ziemlich starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	ziemlich starke Hämolyse

Hämolyse: $M_1 L_3 > L_4 > M_2 L_2 > M_3 L_1 > M_4 = NaCl$.

Versuch 31.

Blut	NaCl 0,9%	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	sehr schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	sehr schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	3 ccm M + 1 ccm L	deutliche Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	ziemlich starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	starke Hämolyse

Hämolyse: $M_1 L_3 > L_4 > M_2 L_2 > M_3 L_1 > M_4 = NaCl$.

Versuche mit Acetonätherextrakten.

Versuch 32.

Blut	NaCl 0,9%	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	33 ccm	4 ccm Leber	keine Hämolyse

Versuch 33.

Blut	NaCl 0,9%	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	keine Hämolyse

Versuche mit Kochsalzlösungextrakten der Substanzen, die durch Aceton und Äther nicht gelöst werden.

Versuch 34.

Blut	NaCl 0,9%	Extrakte	
0,5 ccm	36 ccm	6 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 4 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	6 ccm Leber	keine Hämolyse

Versuch 35.

Blut	NaCl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	36 ccm	6 ccm Leber	keine Hämolyse

Versuch 36.

Blut	NaCl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm L	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	keine Hämolyse

Versuch mit Galle.

Versuch 37.

Blut	NaCl 0,9 %	Galle	
0,5 ccm	37 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	35 ccm	2 ccm gekocht	keine Hämolyse
0,5 ccm	35 ccm	2 ccm ungekocht	keine Hämolyse

Versuche mit Kochsalzlösungextrakten der Milz, der Leber und der Lunge.

Versuch 38.

Blut	NaCl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	sehr schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm Le	sehr starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm Lu + 3 ccm Le	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm Lu	sehr schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Lunge	keine Hämolyse

Hämolyse: $M_1\,Le_3 > Le_4 > Lu_1\,Le_3 > M_4 > M_2\,Lu_2 > Lu_4 = Na\,Cl$

Versuch 39.

Blut	NaCl 0,9 %	Extrakte	
0,5 ccm	40 ccm	—	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Milz	schwache Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	1 ccm M + 3 ccm Le	sehr starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Leber	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	3 ccm Le + 1 ccm Lu	starke Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	4 ccm Lunge	keine Hämolyse
0,5 ccm	36 ccm	2 ccm M + 2 ccm Lu	eine Spur einer Hämolyse

Hämolyse: $M_1\,Le_3 > Le_4 > Le_3\,Lu_1 > M_4 > M_2\,Lu_2 > Lu_4 = Na\,Cl$

Um einen Anhaltspunkt zu bekommen über die Größe des Einflusses der Milz auf die Leber bei der Hämolyse,

wurden in dem Versuch XIII die Proben 3 und 4 auf ihren Gehalt an Hämoglobin im Spektrophotometer gemessen. Nach zweifacher Verdünnung zeigte sich, daß während in der Probe mit Leber allein man die untere Meßtrommel von 100 auf 50,6 zurückdrehen mußte, um Gleichheit in der Helligkeit zu bekommen, die Probe wo Milz und Leber zusammenwirkten, eine Zurückdrehung bis auf 9,2 forderte. Das Verhältnis der Hämoglobinmengen ist also 49,4 zu 90,8. Eine genauere Beschreibung der Anwendung des Spektrophotometers findet sich im zweiten Teil dieser Arbeit.

II. Teil.

Nachdem man diese neuen Tatsachen über die Funktion der Milz im Haushalt des Organismus, und zwar ihre Beziehung zu der Hämolyse, klar zutage treten gelassen hatte, war es nicht uninteressant nachzuforschen, ob diese zerstörende Wirkung der Milz und Leber nur auf die Erythrocyten sich geltend machte. Es war naheliegend, anzunehmen, daß die Leber und die Milz sich nicht einzig darauf beschränkten, die roten Blutkörperchen zu vernichten und das Hämoglobin frei im Plasma fließen zu lassen, sondern daß sie auch den Blutfarbstoff angriffen und zerstörten, um dadurch die Bestandteile desselben wieder verwertbar zu machen. Es gehört nämlich zur vollständigen Zerstörung der Blutkörperchen auch diejenige des in ihnen enthaltenen Hämoglobins. Die Milz sammelt, wie Asher und seine Schüler gezeigt haben, das Eisen, das im Körper frei wird. Ein Teil dieses Eisens stammt von der Spaltung des Blutfarbstoffs her. Der schon einmal erwähnte Befund von Pugliese, daß die Milz in innigem Zusammenhang steht mit der Menge des gebildeten Gallenfarbstoffes, lenkt ebenfalls unsere Aufmerksamkeit in diese Richtung.

Wir haben in diesem zweiten Teil unserer Arbeit Untersuchungen angestellt, die uns zeigen sollen, wie der Einfluß der Leber und der Milz, getrennt und kombiniert, auf eine Hämoglobinlösung ist. Zu diesem Zwecke wurde eine, von der im ersten Teil angewandten, etwas verschiedenen Methode zu Hilfe genommen. Wir verfügten zu unseren spektrocolorimetrischen Messungen über einen der modernsten Apparate, nämlich das

Krüßsche Spektrophotometer nach Vierordt[1]). Dieser Apparat erlaubte uns, streng genaue Messungen an Blutlösungen auszuführen.

Es schien uns wünschenswert, der eigentlichen Darlegung unserer Versuche eine kurzgefaßte Erläuterung über die Anwendung des Spektrophotometers und der Doppelspaltmethode vorauszuschicken.

Der von uns benutzte Apparat unterscheidet sich wesentlich von dem gewöhnlichen Spektralapparat durch den Doppelspalt. Die eine Schneide dieses Spaltes ist unbeweglich, die andere ist beweglich und besteht aus einem oberen und einem unteren Stück. Die zwei Teile dieser beweglichen Schneide können getrennt, durch zwei Mikrometerschrauben nach links oder nach rechts verschoben werden. Die zwei Schrauben sind mit zwei in 100 Teile geteilten Meßtrommeln versehen, die erlauben, den zwei Spalthälften genau meßbare Weite zu geben. Die zwei Spalthälften entsprechen im Gesichtsfeld des Beobachtungsfernrohrs zwei scharf aneinander grenzende Spektren, und zwar der oberen das untere Spektrum und umgekehrt. Solange der Spalt oben und unten gleich weit offen steht, ist die Helligkeit in den beiden Spektren gleich stark.

Zu den Messungen dient folgende Vorrichtung. Zwischen der Lichtquelle einer Petroleumlampe und dem Doppelspalt wird ein Trog mit planparallelen Wänden auf ein Stativ gestellt und zwar in möglichst geringer Entfernung von dem Spalt. Die Distanz zwischen Lichtquelle und Trog ist etwa 10 cm. Der Abstand beider parallelen Glaswände beträgt 11 mm. In den kleinen Trog bringt man zuerst den sogenannten Schulzschen Glaskörper, einen Glaswürfel von 10 mm Dicke, der mit seiner horizontalen oberen Fläche den Glastrog in eine untere und eine obere Hälfte trennt, die den beiden Spalthälften entsprechen. Die auf ihre Absorptionskraft zu untersuchende Flüssigkeit kommt in das kleine Gefäß. Aus den angeführten Vorrichtungen wird es klar, daß die gemeinsame Lichtquelle eine Lichtmenge durch den Trog senden wird, die in der oberen Hälfte eine 11 mm, in der unteren eine 1 mm

---

[1]) Wir verdanken die Möglichkeit, mit diesem Apparat zu arbeiten der Güte des Herrn Professor Sahli.

dicke Flüssigkeitsschicht zu passieren haben wird. Der Unterschied in der Lichtstärke nach dem Durchtritt gibt ein direktes Maß für die Lichtmenge, die durch 10 mm Flüssigkeit absorbiert worden ist. Bevor man das Gefäß mit der Lösung interponiert, werden beide Meßtrommeln auf den Teilstrich 100 gestellt und damit Gleichheit der Helligkeit der beiden Spektren erzeugt. Diese Gleichheit wird gestört, sobald das Licht in der angegebenen Weise durch die Flüssigkeit fällt, und zwar wird das untere Spektrum dunkler (es entspricht der oberen Spalthälfte und der dickeren Flüssigkeitsschicht). Um den entstandenen Unterschied auszugleichen, muß die untere Mikrometerschraube zugedreht werden, (man könnte auch umgekehrt die obere aufdrehen) bis durch Verengerung der unteren Spalthälfte die vermehrte Lichtabsorption kompensiert wird. Da es sich in unseren Messungen nicht um quantitative Angaben handelt, werden jeweilen nur die Zahlen angegeben, die erreicht worden sind bei der Rückdrehung der Mikrometerschraube. Wie oben gesagt, steht diese am Anfang der Messung auf dem Teilstrich 100, und da sie immer zugedreht wird, werden die Zahlen immer zwischen 100 und 0 zu stehen kommen; einer starken Lichtabsorption wird eine kleinere Zahl entsprechen und umgekehrt.

Um noch genauere Ablesungen zu ermöglichen, ist am Spektrophotometer eine kleine Vorrichtung angebracht. In jedem Absorptionsspektrum finden sich bekanntlich einzelne Stellen, wo die Absorption eine stärkere ist; in unserem Falle sind es die zwei charakteristischen Absorptionsstreifen des Hämoglobins. Diese Bezirke werden zu den Messungen mit Vorliebe gewählt, weil in ihnen die Absorption mit zunehmender Konzentration verhältnismäßig starker wächst als in einem beliebig anderen Teile des Spektrums. Um dem Auge die Aufgabe zu erleichtern und die Aufmerksamkeit auf die genannten Stellen zu lenken, wird das übrige Spektrum abgeblendet. Mittels eines Fadenkreuzes wird der gewünschte Bezirk genau eingestellt und dann der Okularschieber von links nach rechts verschoben. Man kann die Breite des zu untersuchenden Streifens in gewissen Grenzen vergrößern oder verkleinern.

Für genauere Angaben über colorimetrische und quantitative Messungen verweisen wir am besten auf das Werk von Krüß: „Colorimetrie und quantitative Spektralanalyse“.

Wie man im Verlauf dieses Kapitels sehen wird, wurde die Versuchsanwendung, um die vorhandenen Fehlerquellen möglichst vollständig auszuschalten, mehrmals etwas umgeändert. Aus diesem Grunde konnten wir die Protokolle und die Besprechung der gewonnenen Resultate nicht vollständig trennen, wie es im ersten Teil geschah.

In unseren Versuchen dienten zuerst Kochsalzlösungextrakte, über deren Vorbereitung wir weiter oben schon berichtet haben. Später wurden auch Alkoholätherextrakte und Kochsalzlösungextrakte, der durch Alkohol und Äther nicht gelösten Substanz, auf ihre Wirkung auf Blutlösung untersucht.

Der allgemeine Versuchsplan ist folgender: eine bestimmte Menge ziemlich verdünnter Blutlösung wird mit den verschiedenen Extrakten versetzt. Die erste spektrophotometrische Messung wird vorgenommen, bevor die Extrakte auf das Hämoglobin eingewirkt haben, die zweite nach einem verschieden langen Stehen.

Versuch 1.

Blutlösung 2 %. Kochsalzlösungextrakte.

35 ccm Blutlösung + 4 ccm NaCl-Lösung
35 ccm Blutlösung + Milzextrakt (ungekocht)
35 ccm Blutlösung + Leberextrakt (gekocht)
35 ccm Blutlösung + Milzextrakt (gekocht).

Ein erstes Mal wurde sofort nach dem Mischen gemessen, und zwar wie später auch immer im rechten Absorptionsstreifen des Hämoglobinspektrums. Wir begnügten uns natürlich nicht mit einer einzigen Ablesung für jede Lösung; die in unseren Tabellen angebenen Zahlen sind die Mittelwerte von 6 bis 10 sukzessiven Ablesungen. Die Zahlen geben uns also an, bis auf welchen Teilstrich die untere Meßtrommel von 100 zurückgedreht werden mußte, um Gleichheit in der Helligkeit herbeizuführen. Nach einigen Übungsmessungen wichen die 6 bis 10 Absorptionsbestimmungen nicht um mehr als fünf Teilstriche voneinander ab. Bei den günstigsten Konzentrationen (10 bis 25) sogar betrugen die Schwankungen oft nicht mehr als zwei Teilstriche.

Vor dieser ersten Messung wurden die Proben dreifach verdünnt, um eine günstigere Absorption zu bekommen. Von den Proben wurde die eine Hälfte während 18 Stunden in den Brutofen (39°) gestellt, während die andere Hälfte ebenso lange in Zimmertemperatur stehen blieb. Nach diesem Stehen lieferte uns eine zweite Messung die in der Tabelle I angegebenen Resultate.

Aus später zu erwähnenden Gründen können wir aus dieser und den fünf folgenden Tabellen keine einwandfreien Schlüsse ziehen.

Tabelle I.

Extrakte	Sofortige Messung	18 Stunden 39°	18 Stunden Zimmertemperatur
NaCl-Lösung	28,9	25,9	27,0
Milz (ungekocht)	9,1	24,9	25,3
Milz (gekocht)	23,9	20,9	26,2
Leber (gekocht)	23,6	40,8	28,7

Die anfänglich größere Absorption der Proben mit Organextrakten erklärt sich einfach durch die Tatsache, daß diese eine eigene Absorption haben. Dieser Umstand wird uns weiter unten veranlassen, zu untersuchen, ob sich diese beim Stehen besonders im Brutofen nicht verändert.

In der zweiten Versuchsreihe wurde, um die Verdünnung vor der Messung zu vermeiden, sofort eine $^2/_3\,^0/_0$ige Blutlösung präpariert.

Versuch 2.

Blutlösung $^2/_3\,^0/_0$. Kochsalzlösungextrakte.

35 ccm Blutlösung + 2 ccm Milz (gekocht)
35 ccm Blutlösung + 1 ccm Milz (gekocht) + 1 ccm Leber (gekocht)
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Leber (gekocht)
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Milz (ungekocht)
35 ccm Blutlösung + 1 ccm Milz (ungekocht) + 1ccm Leber (ungekocht)
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Leber (ungekocht)
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Kochsalzlösung

Die erste Messung wird sofort gemacht, die zweite nach 2 Stunden Brutofentemperatur + 21 Stunden Zimmertemperatur.

Tabelle II.

Extrakte	Sofortige Messung	Nach 2 St. 39° 21 St. Zimmertemperatur	Abnahme der Absorption
NaCl-Lösung	20,1	20,5	0,4
Milz (ungekocht)	20,1	23,3	3,2
Milz (ungekocht) Leber (gek.)	15,9	28,5	12,6
Leber (ungekocht)	12,8	21,5	8,7
Milz (gekocht)	20,6	24,2	3,6
Milz (gekocht) Leber (gekocht)	20,2	26,1	5,9
Leber (gekocht)	19,0	27,5	8,5

Versuch 3.

Blutlösung $^2/_3\,^0/_0$. Kochsalzlösungextrakte.

35 ccm Blutlösung + 2 ccm Kochsalzlösung
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Milz (ungekocht)
35 ccm Blutlösung + 1 ccm Milz (ungek.) + 1 ccm Leber (ungek.)

35 ccm Blutlösung + 2 ccm Leber (ungekocht)
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Milz (gekocht)
35 ccm Blutlösung + 1 ccm Milz (gek.) + 1 ccm Leber (gek.)
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Milz (gekocht).

Da wir nicht Zeit hatten, eine erste Messung auszuführen, wurden die Zahlen aus der Tabelle II genommen. Das Blut und die Extrakte waren die gleichen.

Tabelle III.

Extrakte	Sofortige Messung	$3^1/_2$ St. 39° 3 St. Zimmer-temperatur	$3^1/_2$ St. 39° 25 St. Zimmer-temperatur	Abnahme der Absorption
NaCl-Lösung . . .	20,1	20,4	21,7	1,6
Milz (ungekocht) .	20,1	22,5	27,8	7,7
M. (ungek.), L. (ung.)	15,9	30,3	—	14,4
Leber (ungekocht) .	12,8	32,1	—	19,3
Milz (gekocht) . .	20,6	22,2	34,0	13,4
M. (gek.), L. (gek.) .	20,2	20,0	37,0	16,8
Leber (gekocht) . .	19,0	21,2	30,1	11,1

Da die in den drei ersten Tabellen angegebenen Resultate keine sicheren und übereinstimmenden Wirkungen der Extrakte erkennen lassen, wurde daran gedacht, daß diese beim Stehen besonders in der Wärme ihre eigene Absorption verändern könnten. Durch eine Fällung würde diese vermindert, durch eine Trübung vermehrt werden. Ein solcher Umstand würde eine Störung in den Messungen an den Blutlösungen erklären. In den folgenden Versuchen finden sich jeweilen Proben ohne Blut, um diese Möglichkeit zu untersuchen.

Versuch 4.

Blutlösung $^2/_3$ %. Kochsalzlösungextrakte.

35 ccm Blutlösung + 2 ccm Kochsalzlösung
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Milz (ungekocht)
35 ccm Blutlösung + 1 ccm Milz (ungek.) + 1 ccm Leber (ungek.)
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Leber (ungekocht)
35 ccm Aqua dest. + 2 ccm Leber (ungekocht).

Tabelle IV.

Extrakte	Sofortige Messung	$5^1/_2$ St. 39°	Abnahme der Absorption
NaCl-Lösung	21,0	23,7	2,7
Milz (ungekocht)	20,8	29,9	9,1
Milz (ungek.), Leber (ungek.) .	17,6	49,0	31,4
Leber (ungekocht)	15,8	40,8	25,0
Leber (ungekocht) Aqua dest.	83,2	73,6	— 9,6

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß der Leberextrakt bei der ersten Ablesung eine geringere Absorption zeigt als nach dem Stehen im Brutofen. Nun ist es schwer zu sagen, wieviel in den anderen Proben der Hämoglobinzerstörung zuzuschreiben ist und wieviel von dem Absorptionsunterschied der Extrakte herrührt.

Versuch 5.

Blutlösung $^2/_3$%. Kochsalzlösungextrakte.

35 ccm Blutlösung + 2 ccm Kochsalzlösung
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Milz (gekocht)
35 ccm Blutlösung + 1 ccm Milz (gekocht) + 1 ccm Leber (gekocht)
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Leber (gekocht)
35 ccm Aqua dest. + 2 ccm Leber (gekocht)

Tabelle V.

Extrakte	Sofortige Messung	5 St. 39° 18 St. Zimmertemperatur	Abnahme der Absorption
NaCl-Lösung	18,3	22,3	4,0
Milz (gekocht)	17,7	29,7	12,0
Milz (gekocht), Leber (gekocht)	16,8	47,8	31,0
Leber (gekocht)	17,1	47,3	30,2
Leber (gekocht) Aqua dest.	79,4	72,8	— 6,6

Versuch 6.

Blutlösung $^2/_3$%. Kochsalzlösungextrakte.

35 ccm Blutlösung + 2 ccm NaCl-Lösung
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Milz (ungekocht)
35 ccm Blutlösung + 0,5 ccm Milz (ungek.) + 1,5 ccm Leber (ungek.)
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Leber (ungekocht)
35 ccm Aqua dest. + 2 ccm Milz (ungekocht)
35 ccm Aqua dest. + 2 ccm Leber (ungekocht)

Tabelle VI.

Extrakte	Sofortige Messung	4 St. 39° $14^1/_2$ St. Zimmertemper.	Abnahme der Absorption
NaCl-Lösung	27,0	29,7	2,7
Milz (ungekocht)	22,9	24,0	1,1
Milz (ungek.), Leber (ungek.)	21,0	45,0	24,0
Leber (ungekocht)	19,8	52,3	32,5
Milz (ungekocht) Aqua dest.	67,6	49,6	—18,0
Leber (ungekocht) Aqua dest.	46,5	77,8	31,3

Diese Tabelle lehrt uns:

1. Daß der verdünnte Milzextrakt wie der Leberextrakt sein eigenes Absorptionsvermögen, zwischen den beiden spektrophotometrischen Messungen beträchtlich verändert hat.

2. Daß sich diesmal bei dem Leberextrakt, nicht wie bei den zwei vorherigen Versuchsreihen, die Absorption vergrößert, sondern daß eine Verminderung eingetreten ist.

Man darf sich folglich nicht ohne weiteres auf die abgelesenen Werte stützen, um sich ein genaues Urteil über die Wirkungen der Extrakte zu verschaffen. Die Absorptionsschwankungen der Extrakte müssen berücksichtigt werden. Daß man nicht einfach die Absorptionsunterschiede der Extraktlösungen abziehen kann von den gefundenen Werten, wo diese auf eine Blutlösung einwirkten, um ein richtiges Maß für die Hämoglobinzerstörung zu bekommen, zeigt folgender Versuch.

Versuch 7.

Blutlösung $^{2}/_{3}$ %. Kochsalzlösungextrakte.

1,35 ccm Blutlösung + 2 ccm Kochsalzlösung
2,35 ccm Blutlösung + 2 ccm Leber (ungekocht)
3,35 ccm Aqua dest. + 2 ccm Kochsalzlösung
4,34 ccm Aqua dest. + 2 ccm Leber (ungekocht)

Tabelle VII.

	Extrakte	Sofortige Messung	Unterschied
1. Blutlösung	NaCl-Lösung	29,0	} 10,0
2. Blutlösung	Leber (ungekocht)	19,0	
3. Aqua dest.	NaCl-Lösung	85,9	} 39,4
4. Aqua dest.	Leber (ungekocht)	46,5	

Während 2 ccm Leberextrakt das Absorptionsvermögen einer $^{2}/_{3}$ %igen Blutlösung um 10 % erhöhen, vermehrt die gleiche Menge des gleichen Extraktes die Absorption des dest. Wassers um 39,4 %. Aus dieser Feststellung geht hervor, daß die Extrakte die Versuchsergebnisse in dem Maße stören, daß keine einwandfreien Schlüsse gezogen werden können. Man kann nicht durch einfache Umrechnung die Absorption der Extrakte ausschalten. Trotz der Minderwertigkeit der bis jetzt gefundenen Resultate zeigt sich manchmal ziemlich deutlich, daß durch Milzextraktzusatz eine Vergrößerung der Hämoglobinzerstörung

durch die Leber erreicht wird, besonders wenn man in Betracht zieht, daß die Spaltung des Blutfarbstoffes beim Zusammenwirken beider Organextrakte nicht absolut größer zu sein braucht als diejenige durch Leber allein, sondern nur größer als es eine indifferente Beteiligung beider Organe verlangen würde.

Die oben erwähnten Fehlerquellen zwangen uns, an unserer Versuchsanordnung Veränderungen anzubringen, die eine vollständige Ausschaltung der Absorption durch die Extrakte ermöglichten. Wir erreichten unser Ziel in den folgenden Versuchen durch nachstehende Maßnahmen.

Es wurde in den Brutofen gestellt oder in Zimmertemperatur stehen gelassen:

1⁰ Blutlösung mit verschiedenen Extrakten in verschiedener Kombination.

2⁰ Blutlösung für sich.

3⁰ Extrakte für sich.

Sobald man annehmen kann, daß die Extrakte genügend auf das Hämoglobin eingewirkt haben, werden die Messungen vorgenommen. Es werden gemessen:

Messung I. Proben, die man herstellt aus der Blutlösung und den Extrakten, die getrennt bei Brutofen oder Zimmertemperatur gestanden haben.

Messung II. Proben, in denen von Anfang an die Extrakte auf die Blutlösungen eingewirkt haben.

Um einen Vergleich zu erlauben, werden natürlich in beiden Probenserien Blutlösung und Extrakte in gleichen Verhältnissen zusammengebracht.

Es ist klar, daß mit dieser Versuchsanordnung der Einfluß der Absorption der Extrakte ausgeschaltet wird, denn wenn das Stehen im Brutofen oder im Zimmer die Absorptionsverhältnisse der letzteren verändert, so sind der Sinn und die Größe dieser Veränderungen für je zwei identisch zusammengestellte Proben bei der Messung I und II gleichwertig.

Versuch 8.

Blutlösung $^2/_3\,^0/_0$. Kochsalzlösungextrakte.

35 ccm Blutlösung + 2 ccm Milzextrakt (ungekocht)
35 ccm Blutlösung + $^1/_2$ ccm Milz (ungek.) + $1^1/_2$ ccm Leber (ungek.)
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Leberextrakt (ungekocht)
4 Stunden Brutofentemperatur
23 Stunden Zimmertemperatur

Tabelle VIII.

Extrakte	Messung I	Messung II	Unterschied
Milz (ungekocht)	21,1	26,0	4,9
Milz (ungek.), Leber (ungek.)	14,4	32,7	18,3 (13,5)
Leber (ungekocht)	11,1	27,5	16,4

Dieser Versuchsplan erspart uns Messungen an der Blutlösung und an den Extrakten, und erlaubt mit Sicherheit anzunehmen, daß die abgelesenen Unterschiede zwischen Messung I und II einzig und allein von einer Hämoglobinspaltung herrühren. Die Werte sind demnach im allgemeinen kleiner als die in den früheren Tabellen.

Voraussetzung für eine indifferente Beteiligung des Leber- und Milzextraktes bei der Hämoglobinzerstörung beim Zusammenwirken beider wäre ein Unterschied der Werte bei Messung I und II von 13,5 (diese Zahl wie jeweilen neben den gefundenen, zwischen Klammern angegeben). Da aber statt dessen das Absorptionsvermögen um 18,3 % abgeschwächt worden ist, sind wir genötigt, anzunehmen, daß der eine Extrakt den anderen aktiviert hat.

Versuch 9.

Blutlösung $^2/_3$ %. Kochsalzlösungextrakte

35 ccm Blutlösung + 2 ccm Milz (gekocht)
35 ccm Blutlösung + $^1/_2$ ccm Milz (gek.) + 1 $^1/_2$ ccm Leber (gek.)
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Leber (gekocht)
4 Stunden Brutofentemperatur
27 Stunden Zimmertemperatur

Tabelle IX.

Extrakte	Messung I	Messung II	Unterschied
Milz (gekocht)	27,2	31,2	4,0
Milz + Leber	37,0	36,0	— 1,0
Leber (gekocht)	31,4	32,0	0,6

Die Messung I wurde diesmal nicht sofort nach der Mischung von Blutlösung und Extrakten vorgenommen, sondern erst 6 Stunden später. Aus der obigen Tabelle geht hervor, daß Milz + Leber und Leber allein nach 6 Stunden Zimmertemperatur soviel Hämoglobin zerstört haben, als nach 4 Stunden Brutofentemperatur + 27 Stunden Zimmertemperatur. Ob

eine Aktivierung des Leberextraktes durch die Brutofentemperatur stattgefunden hat oder ob überhaupt in den Proben mit Leber kein Hämoglobin gespalten worden ist, können wir aus diesem alleinstehenden Versuche nicht entscheiden. Immerhin scheint uns die zweite Eventualität wegen der geringen Absorption und in Anbetracht der bis jetzt gefundenen Resultate unwahrscheinlich.

Es wurde in diesem Versuche nachgewiesen, daß der Milzextrakt ein stärkeres Absorptionsvermögen hat als der Leberextrakt, wenn also bei der Probe, wo Milz und Leber zusammenwirken, eine geringere Lichtabschwäehung gefunden wurde als in der Leberprobe, sowohl bei Messung I wie bei Messung II, so weist uns diese Tatsache zwingend darauf hin, daß durch die Milz die hämoglobinzerstörende Kraft der Leber erhöht worden ist.

Wie es auch im I. Teil unserer Arbeit geschah, wurden die Leber und die Milz mit Alkohol und Äther extrahiert. Beide Teile sowohl der gewonnene Extrakt wie die ungelöste feste Substanz wurden weiterverarbeitet. Die feste Substanz zuerst wurde mit Kochsalzlösung extrahiert. Mit diesen Ex- sind die in folgender Tabelle niedergelegten Resultate erhalten worden.

Versuch 10.

Blutlösung $^{2}/_{3}$ %. Kochsalzlösungextrakte. (Nach Behandlung mit Alkohol und Äther)

35 ccm Blutlösung + 2 ccm Milzextrakt

35 ccm Blutlösung + $^{1}/_{2}$ ccm Milzextrakt + $1^{1}/_{2}$ ccm Leberextrakt

35 ccm Blutlösung + 2 ccm Leberextrakt.

$5^{1}/_{2}$ Stunden im Brutofen

$16^{1}/_{2}$ Stunden Zimmertemperatur

Tabelle X.

Extrakte	Messung I	Messung II	Unterschied
Milz	16,9	24,4	7,5
Milz + Leber	20,7	45,8	25,1 (13,9)
Leber	23,3	39,3	16,0

Die obige Tabelle zeigt uns noch deutlicher als bis jetzt den günstigen Einfluß des Milzextraktes auf die Hämoglobinzerstörung durch die Leber. Anstatt einen Mittelwert der

Absorptionsverminderung von 13,9 (dieser Wert wird aus den Zahlen der zwei anderen Proben ausgerechnet) zeigen die beiden Messungen einen Unterschied von 25,1. Bei dieser Art der Extraktvorbereitungen haben Milz und Leber getrennt beide einen deutlich zerstörenden Einfluß auf das Hämoglobin. Die entsprechenden Versuche auf Hämolyse waren negativ ausgefallen.

Die mit Kochsalzlösung aufgenommenen ausgedampften Alkoholätherextrakte dienten uns zu folgendem Versuche.

Versuch 11.

Blutlösung $^2/_3$ %. Alkoholätherextrakte
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Milzextrakt
35 ccm Blutlösung + $^1/_2$ ccm Milzextrakt + 1 $^1/_2$ ccm Leberextrakt
35 ccm Blutlösung + 2 ccm Leberextrakt
4 $^1/_2$ Stunden Brutofentemperatur
16 $^1/_2$ Stunden Zimmertemperatur

Tabelle XI.

Extrakte	Messung I	Messung II	Unterschied
Milz	18,0	29,3	11,3
Milz + Leber	12,4	23,2	10,8 (10,0)
Leber	10,5	20,0	9,5

Es zeigte sich, daß bei diesen Alkoholätherextrakten die Hämoglobinzerstörung noch beträchlich ist, aber der Aktivator der Milz scheint gänzlich in der ungelösten festen Substanz zurückgeblieben zu sein.

Die nächstfolgenden Versuchsreihen und Tabellen sind ungefähr unter gleichen Bedingungen gemacht worden wie die letzten (8 bis 11); nur eine kleine Umänderung wurde vorgenommen, um die Fehlerquellen, wenn möglich, noch geringer zu gestalten. Anstatt die Extrakte mit ihrer ursprünglichen Konzentration anzuwenden, wurden sie zehnfach verdünnt.

Versuch 12.

Blutlösung 1 $^1/_3$ %. Kochsalzlösungextrakte (10 fach verd.)
20 ccm Blutlösung + 20 ccm Milzextrakt (ungekocht)
20 ccm Blutlösung + 5 ccm Milzextrakt + 15 ccm Leberextrakt
20 ccm Blutlösung + 20 ccm Leberextrakt (ungekocht)
2 Stunden Brutofentemperatur
20 Stunden Zimmertemperatur

Neben den Proben werden in den Brutofen gestellt eine gleich konzentrierte Blutlösung und die verdünnten Extrakte. Wieder vergleicht man die Proben mit neu in gleichen Verhältnissen angesetzten Mischungen, wo man den Extrakten nicht Zeit läßt, auf Hämoglobin einzuwirken.

Tabelle XII.

Extrakte	Messung I	Messung II	Unterschied
Milz	13,8	18,0	4,2
Milz + Leber	26,2	31,2	5,0 (1,0)
Leber	28,3	28,3	0,0

Durch Leberextrakt wurde in diesem Falle kein Hämoglobin, aber eine Verstärkung der Blutfarbstoffspaltung durch Milzextraktzusatz ist um so deutlicher.

Versuch 13.

Blutlösung $1\,{}^1/_3\,{}^0/_0$. Kochsalzlösungextrakte (10 fach verd.)

20 ccm Blutlösung + 20 ccm Milzextrakt (gekocht)
20 ccm Blutlösung + 5 ccm Milzextrakt (gek.) + 15 ccm Leberextrakt (gek.)
20 ccm Blutlösung + 20 ccm Leberextrakt (gekocht)
$3\,{}^1/_2$ Stunden Brutofentemperatur
19 Stunden Zimmertemperatur.

Tabelle XIII.

Extrakte	Messung I	Messung II	Unterschied
Milz	19,3	30,8	11,5
Milz + Leber	14,9	32,0	17,1 (10,3)
Leber	17,6	27,6	10,0

In den bis jetzt angeführten Versuchen konnte fast regelmäßig beobachtet werden, daß in den Proben mit Leberextrakt (manchmal auch in solchen mit Milzextrakt) eine Fällung während des Stehens im Brutofen auftrat. Diese Fällung zeigte sich zwar auch, wenn man keine Blutlösung dem Leberextrakt hinzufügte. Es war angezeigt, den eventuellen Einwand, es werde durch den Niederschlag das Hämoglobin mitgerissen, zu widerlegen. Die Tatsache zwar, daß nach Milz und Leberextrakteinwirkung nicht nur eine Schwächung, sondern sogar eine auffallende Umänderung der Färbung erzielt worden war, sprach schon genügend für eine wirkliche Spaltung des Blutfarbstoffs. Trotzdem wurde in dem folgenden Versuche versucht, diese Fällung auszuschalten. Zu diesem Zwecke wurden

die Extrakte eine Nacht in den Brutofen gestellt und der aufgetretene Niederschlag durch sorgfältiges Abfiltrieren entfernt. Dann wurden in gewohnter Weise die Proben angesetzt.

Versuch 14.

Blutlösung $1\,^1/_3\,\%$. Kochsalzlösungextrakte (10 fach verd.)
20 ccm Blutlösung + 20 ccm Milzextrakt (ungekocht)
20 ccm Blutlösung + 5 ccm Milzext. (ungek.) + 15 ccm Leberext. (ungek.)
20 ccm Blutlösung + 20 ccm Leberextrakt (ungekocht)
4 Stunden Brutofentemperatur
1 Stunde Zimmertemperatur

Tabelle XIV.

Extrakte	Messung I	Messung II	Unterschied
Milz	22,5	22,7	0,2
Milz + Leber	24,2	36,0	11,8 (5,5)
Leber	28,8	36,2	7,4

Die Resultate zeigen keine Abweichung von den gewöhnlichen.

Versuch 15.

Blutlösung $1\,^1/_3\,\%$. Kochsalzlösungextrakte (nach Behandlung mit Alkohol und Äther).
20 ccm Blutlösung + 20 ccm Milzextrakt
20 ccm Blutlösung + 5 ccm Milzextrakt + 15 ccm Leberextrakt
20 ccm Blutlösung + 20 ccm Leberextrakt
4 Stunden Brutofentemperatur
17 Stunden Zimmertemperatur

Tabelle XV.

Extrakte	Messung I	Messung II	Unterschied
Milz	13,7	21,1	7,4
Milz + Leber	14,0	27,6	13,6 (6,6)
Leber	14,3	20,8	6,5

Versuch 16.

Blutlösung $1\,^1/_3\,\%$. Alkoholätherextrakte
20 ccm Blutlösung + 20 ccm Milzextrakt
20 ccm Blutlösung + 5 ccm Milzextrakt + 15 ccm Leberextrakt
20 ccm Blutlösung + 20 ccm Leberextrakt
4 Stunden Brutofentemperatur
18 Stunden Zimmertemperatur

Tabelle XVI.

Extrakte	Messung I	Messung II	Unterschied
Milz	20,8	35,3	14,5
Milz + Leber	34,1	44,5	10,4 (9,5)
Leber	40,0	47,9	7,9

Wie schon in dem letzten entsprechenden Versuche (11), wo Alkoholätherextrakte untersucht wurden, vermochte auch dieses Mal sowohl die Milz als die Leber Hämoglobin zu spalten, aber das Zusammenwirken beider war ein indifferentes.

Zum Schlusse unserer Untersuchungen wurde versucht, mit einer von der spektrophotometrischen grundverschiedenen Methode klar hervortreten zu lassen, daß, wenn man Leberextrakt auf eine Blutlösung einwirken läßt, das gesamte Hämoglobin sich nicht mehr in der Lösung befindet, und daß es auch nicht in dem fast regelmäßig auftretenden Niederschlag zu finden ist. Die angewandte Methode stützt sich auf den bekannten, auch in der gerichtlichen Medizin gebrauchten Nachweis des Hämoglobins oder des Hämatins. Es wird folgendermaßen vorgegangen: ein Tropfen Blut wird in einer Uhrschale langsam an der Luft ausgetrocknet, mit einem Tropfen Kochsalzlösung zerrieben und endlich mit etwas Eisessig versetzt. Nachdem man die erhaltene Lösung bis zum Sieden erhitzt hat, sind unter dem Mikroskop eine Menge charakteristischer Häminkrystalle zu sehen.

Versuch 17.

Blutlösung $1\,^1/_3\,^0/_0$ Kochsalzlösungextrakte
20 ccm Blutlösung + 5 ccm Kochsalzlösung
20 ccm Blutlösung + 5 ccm Leberextrakt
4 Stunden Brutofentemperatur
20 Stunden Zimmertemperatur

Die eine Hälfte dieser zwei Proben wurde rasch auf dem Wasserbad (100°) ausgedampft. Mittels der Häminkrystallprobe stellte sich heraus, daß in der reinen Blutlösung mehr Krystalle zum Vorschein kamen als in der Probe mit Leberextraktzusatz. Nach approximativer Schätzung war das Verhältnis etwa 15 : 3. Noch bessere Resultate wurden erzielt, als wir die zweite Hälfte der Proben nicht auf dem Wasserbad, sondern in dem Brutofen (40°) ausdampften. Bei der unveränderten Blutlösung fanden sich eine unzählbare Menge schöner Krystalle, während die in der zweiten Probe nur spärlich vorhanden waren und auch bedeutend kleiner schienen.

Da wir die ganzen Proben ausgedampft haben, können wir zwanglos annehmen, daß weder in der Lösung noch in dem Niederschlage das gesamte Hämoglobin vorhanden ist, wenn man Leberextrakt auf eine Blutlösung einwirken läßt; dies beweist uns von neuem, daß ein Teil des Hämoglobins abgebaut worden ist und zwar über die Stufe des Hämins.

Versuche zum Nachweis eventuell freiwerdenden Eisens, bei der Spaltung des Blutfarbstoffs, sind negativ ausgefallen.

Wenn wir die Resultate dieses zweiten Teiles unserer Arbeit im Zusammenhang betrachten, stellt sich folgendes heraus:

1. Milzextrakt vermag Hämoglobin abzubauen.

2. Leberextrakt zeigt die gleiche Eigenschaft gewöhnlich ausgesprochener.

3. Der Zusatz von Milzextrakt zu Leberextrakt vermag die hämoglobinzerstörende Kraft des letzteren in erheblichem Maße zu verstärken.

4. Durch das Kochen der Extrakte konnte nicht, wie bei der Hämolyse, ein vollständiger Ausfall der Hämoglobinzerstörung erzielt werden. Unsere Versuche erlauben es nicht, bestimmte vergleichende Angaben über die Intensität der Wirkung vor und nach dem Kochen zu geben.

5. Wenn man die ungelöste Substanz, die nach Behandlung mit Alkohol und Äther zurückbleibt, mit Kochsalzlösung extrahiert, bekommt man Extrakte, die qualitativ bei der Hämoglobinzerstörung die gleichen Eigenschaften zeigen wie die ungekochten gewöhnlichen Kochsalzextrakte. Quantitativ scheint die Erhöhung der Blutfarbstoffzerstörung beim Zusammenwirken beider Extrakte noch günstiger auszufallen als bei den anderen Extrakten. Vielleicht ist das in Zusammenhang zu bringen mit der Tatsache, daß Alkohol und Äther einen Teil der hämoglobinzerstörenden Stoffe der Milz und Leber lösen, aber nicht den Aktivator der Milz.

6. Die mit Kochsalzlösung aufgenommenen ausgedampften Alkoholätherextrakte zeigen einen deutlichen Hämoglobinabbau sowohl für Milz als für Leber, aber eine Verstärkung desselben bei gemeinsamer Wirkung trat nicht zutage.

7. Durch die Häminprobe können wir nachweisen, daß das Hämoglobin durch Leberextrakt wirklich gespalten wird, und zwar über die Häminstufe.

Es ist klar, daß, wenn man in den Untersuchungen über die Hämolyse durch die verschiedenen Extrakte ihre zweite

Funktion, nämlich die Hämoglobinzerstörung, ausschalten könnte, die Aktivierung der hämolytischen Wirkung des Leberextraktes durch den Milzextrakt noch deutlicher zum Vorschein kommen würde, da wir ja erkannt haben, daß in der Probe mit Milzextrakt + Leberextrakt mehr Blutfarbstoff zerstört wird als n der Probe, wo Leberextrakt allein ist.

Versuchen wir jetzt, unsere Ergebnisse neben die in der Literatur angegebenen zu stellen, so sehen wir, daß sie ganz gut neben diesen Platz finden, und sogar dazu beitragen, gewisse Widersprüche zu erklären. Ganz bestimmte und einwandfreie Tatsachen sind über die Milzfunktion nur wenig bekannt. Diese Armut in den Kenntnissen dieses Gegenstandes beruht nicht etwa auf einem Mangel an Interesse seitens der Forscher, sondern auf der komplizierten Funktion dieses Organs. Dadurch, daß die Milz ihre Produkte dem Blutkreislauf abgibt, entsteht die Möglichkeit eines Einflusses auf die Funktion mehrerer Organe des Organismus. Hier kann nicht einfach, wie bei den Drüsen, mit Ausführungsgängen das Sekret durch eine Fistel gesammelt und dann untersucht werden. Keine Abflußwege deuten an, wohin die Produkte des Organs abgeführt werden Nur die biologische Anordnung der Milz zeigt uns, mit welchen Organen sie in innigerem Zusammenhang steht.

Wie schon in der Einleitung bemerkt, hat das Studium der Milzfunktion an Interesse gewonnen, seitdem man therapeutisch die Milzexstirpation vornimmt. Eppinger und v. Decastello namentlich, zwei Wiener Kliniker, berichten über günstige Erfolge nach Milzentfernung bei perniciöser Anämie und hämolytischem Ikterus.

Gestützt auf Ausfallserscheinungen nach Splenektomie hat man der Milz nicht nur auseinandergehende, sondern gerade entgegengesetze Eigenschaften zugeschrieben. Wie kommt es, daß beispielsweise die einen Autoren die Ansicht vertreten, die Milz habe vor allem eine wichtige Funktion bei der Hämatopoese, während andere die entgegengesetzte Anschauung gewonnen haben, nämlich einer vorwiegend hämolytischen Funktion der Milz? Wie Asher und seine Schüler gezeigt haben, hat die Milz eine wichtige Rolle im Eisenstoffwechsel des tierischen Organismus. Sie hat nämlich die Aufgabe, das Eisen, das im Körper

durch Zellzerfall frei wird, diesem zu erhalten und wieder verwertbar zu machen. Aus dieser Feststellung geht hervor, daß die Milz eine wesentliche, wenn auch indirekte Rolle bei der Blutkörperchenbildung spielt. Durch ihr Fehlen wird wegen Eisenmangel die Hämatopoese verlangsamt. Anderseits glauben wir durch unsere Versuche zur Genüge gezeigt zu haben, daß die Milz eine nicht unbeträchtliche Aufgabe bei der Hämolyse hat. Normalerweise wirken beide Faktoren gleichzeitig auf das Blutbild. Diese Erwägung allein erklärt uns in einfachster Weise, daß man in der Literatur das eine Mal die eine, das andere Mal die entgegengesetzte Ansicht vertreten findet. Je nachdem die eine oder die andere Funktion schwerer in die Wage fällt, wird die Meinung der Forscher in die eine oder andere Richtung gelenkt. Beim splenektomierten Tiere kann der Ausfall der Funktion der Milz, als Aufspeicherungsort des im Organismus freiwerdenden Eisens, ausgeglichen werden durch eine eisenreiche Nahrung. Vogel hat in seiner Arbeit auf solche Beziehungen hingewiesen. Wenn man die Versuchsprotokolle von Vogel und Sollberger durchsieht, ergibt sich, daß man durch eine eisenreiche Nahrung nicht nur den hämatopoetischen Faktor der Milzfunktion kompensieren kann, sondern daß man sogar eine erhöhte Hämoglobinmenge und Blutkörperchenzahl als Folge der Milzentfernung bekommt. Diese Tatsache können wir nach unseren Untersuchungen in einfachster Weise durch den Ausfall der hämolytischen Funktion der Milz erklären.

Die makroskopische Veränderung des Knochenmarks nach Milzexstirpation beweist nicht zwingend, daß eine größere Blutkörperchenbildung stattfindet. Es ist nämlich schwer begreiflich, warum der Ausfall eines vorwiegend hämolytisch wirkenden Organs durch eine Hyperfunktion eines hämatopoetischen Organs beantwortet sein sollte. Vielleicht nimmt das Knochenmark einen Teil der Funktion der Milz beim Eisenstoffwechsel auf sich, und darauf beruhen möglicherweise ungewöhnlichen Veränderungen. Das Steigen der Hämoglobinmenge und der Erythrocytenzahl als Antwort auf einen kleinen Blutentzug beim milzlosen Tier, bedeutet vielleicht, daß die Milz in der Blutzusammensetzung die Rolle eines Regulators spielt. Durch den Blutentzug wird sowohl das hämatopoetische wie das hämolytische System gereizt. Eine Folge des Fehlens der Milz ist, daß

zuerst das erste das Übergewicht hat und erst allmählich die Werte zur Norm zurückkehren. Die pendelartigen Schwankungen der von Vogel und Sollberger gefundenen Zahlen für Hämoglobingehalt und Blutkörperchenzahl nach einem Blutentzug deuten vielleicht auf einen solchen Kampf zwischen zwei einander entgegenarbeitenden Systemen. Man muß annehmen, daß nach und nach die hämolytische Funktion der Milz durch andere Gewebe übernommen wird, aber die Tatsache, daß jeder Reiz eine bedeutendere Störung hervorruft beim normalen als beim splenektomierten Tier beweist uns, daß die Milz als empfindlichster Angriffspunkt des ganzen Blutapparates ihr Analogon nicht findet.

Sollberger schätzt die Hämolyse durch die Milz als sehr gering. Wir glauben auch, daß normaliter die Teilnahme dieses Organs im Zerstörungsprozeß der roten Blutelemente sehr bescheiden ist (aus diesem Grunde wird es auch leicht in dieser Beziehung durch andere Organe kompensiert), aber sobald es die Verhältnisse verlangen oder sobald ein Reiz auf das Blut einwirkt, vermag es beträchtlich die gesamte Hämolyse zu steigern, und nach unseren Untersuchungen wird speziell die Leber aktiviert. Das unverhältnismäßig tiefe Sinken der Erythrocytenzahl nach einem nicht sehr großen Blutentzug beim normalen Tier scheint etwas Irrationnelles. Sollberger sagt: „Vielleicht ist aber — wie rein hypothetisch zur Diskussion gestellt werden soll — gerade die innerhalb physiologischer Grenzen sich bewegende Hämolyse ein Mittel, die Regeneration in Gang zu setzen.“ Was Sollberger so vorsichtig ausdrückt, glauben wir nach obigen Erwägungen fest behaupten zu können, denn wir betrachten die Milz als den empfindlichsten Angriffspunkt des ganzen blutbildenden und blutzerstörenden Apparates, und solange dieses Organ vorhanden ist, wird gemäß seiner vorwiegend hämolytischen Funktion jede Reizung auf das Blut zuerst durch ein Sinken der Hämoglobinmenge und der Erythrocytenzahl beantwortet werden. Eine Stütze zu unseren Anschauungen liefern uns die Versuche von Sollberger über den Einfluß von Aqua amygdalarum amarum auf das Blutbild beim normalen und beim milzlosen Kaninchen. Das eine Tier war vor 7—8 Monaten operiert worden und zeigte ein mit demjenigen des normalen übereinstimmendes Blutbild. In dieser

Beziehung war also die Milz, soweit es möglich war, ersetzt worden. Sobald man aber auf das Blut einen Reiz ausübte in Form eines Blutgiftes, der Aqua amygdalarum amarum, bekam man im Verhalten beider Kaninchen so auffällige Unterschiede, daß jede zufällige Prädisposition auszuschließen war. Das normale Tier war außerordentlich empfindlich und als unmittelbare Folge der Einspritzung des genannten Blutgiftes zeigte sich ein beträchtliches Sinken der Hämoglobinmenge und der Blutkörperchenzahl. Beim splenektomierten Tier war trotz meist doppelt so starker Giftdosen weit entfernt nicht so tiefes Sinken zu sehen. Über ähnliche Befunde bei Anwendung anderer Blutgifte (Pyrodin, Toluylendiamin usw.) berichten verschiedene Autoren.

Gewisse Forscher wollen den fast allgemein anerkannten Anteil der Milz bei der Hämolyse durch ein anderes Moment erklären, nämlich eine Resistenzverminderung der roten Blutkörperchen gegenüber normal hämolysierenden Stoffen des Organismus. Durch das Fehlen der Milz würde diese Verminderung ausbleiben und dadurch ein Ansteigen der Blutkörperchenzahl ermöglichen. Wie schon Sollberger bemerkt, ist ein Resistenterwerden der Erythrocyten durch das Fehlen eines Organs schwer begreiflich und ungewohnt. Trotzdem ist diese Frage hin und wieder Gegenstand eifriger Untersuchungen, von einigen Autoren wird sie ganz entschieden verneint. Die Entstehung der erwähnten Anschauung kann vielleicht in Zusammenhang gebracht werden mit der Tatsache, daß bei der Chlorose, also bei Eisenarmut des Blutes, die osmotische Resistenz der Erythrocyten größer als normal ist. Vielleicht verursacht die Milzexstirpation ähnliche Verhältnisse wie bei der Chlorose. Es wurden neuerdings von Strisower und Goldschmidt Versuche angestellt an Hunden, um die Frage der Resistenzverminderung der Blutelemente durch die Milz zu entscheiden. Um jede unerwünschte und störende Einwirkung einzuschalten wurde das Blut vor und nach der Milzpassage verglichen. Es wurde eine konstante aber geringe Abnahme der Widerstandsfähigkeit der Erythrocyten konstatiert und zwar so gering, daß sie nicht ausreicht, um die Befunde Sollbergers und unsere genügend zu erklären.

Die in der Einleitung angeführten Befunde von Pugliese

seien noch kurz besprochen. Von ihm wurde festgestellt, daß nach Milzexstirpation eine Verminderung von mehr als 50% der Menge der gebildeten Gallenfarbstoffe eintritt. Er selber erklärt die Abnahme folgendermaßen: „Sa rate a la fonction importante d'accumuler et de conduire au foie par la veine porte le matériel nécessaire aux cellules hépatiques pour la formation des pigments biliaires. Sa rate une fois enlevée ce matériel se répand dans d'autres organes et spécialement dans la moelle osseux, et il n'arrive au foie que peu à la foix, et par la circulation générale. Consequemment, le foie ayant une moindre quantité de matériel à élaborer, il éliminera aussi moins ces pigments biliaires.“ Pugliese ist der Ansicht, daß die Abnahme der Gallenfarbstoffbildung nicht einer verminderten Hämolyse zuzuschreiben sei. Mit dieser Erklärung stimmen unsere obigen Annahmen betreffs der hämolytischen Funktion der Milz überein. Nach einiger Zeit hat die Milzexstirpation auf die Gesamthämolyse keinen wesentlichen Einfluß mehr, wohl aber wird der Eisenstoffwechsel und die Gallenfarbstoffbildung darunter leiden. Pugliese nimmt eine teilweise Ersetzung der Milzfunktion durch das Knochenmark an, und kann damit auch die nachgewiesene Veränderung desselben nach Splenektomie erklären.

Eppinger hat beim hämolytischen Ikterus die anormal erhöhte Menge Urobilin im Stuhle durch Milzentfernung bekämpfen können. Er schließt daraus, daß „die Milz mit der Erythrocytenzerstörung in ursächlichem Zusammenhange steht“. Anderseits splenektomierte Eppinger einen Fall von perniciöser Anämie und bekam als sofortige Folge der Operation einen Anstieg der Erythrocytenzahl auf 5000000 und der Hämoglobinmenge auf 98 Sahli. Diese Fälle sind schon deshalb etwas speziell, weil beim hämolytischen Ikterus und der perniciösen Anämie eine Erkrankung der Milz vorhanden ist und diese dadurch einen Reiz bekommt, der sie veranlaßt, die hämolytische Funktion der Leber zu steigern. Es ist begreiflich, daß durch Splenektomie dem Übel ein Ende gemacht wird.

Es ist vielleicht aufgefallen, daß im Laufe dieser Darstellung immer von einer Aktivierung der Leberfunktion durch die Milz die Rede war. Nun, haben wir einen sicheren, greifbaren Beweis, daß die Rollen nicht umgekehrt sind, daß nicht die Leber

die Milzfunktion aktiviert? Einen solchen Beweis besitzen wir nicht, aber wir glauben, daß der biologische Zusammenhang beider Organe für unsere Annahme spricht. Die Milz kann nämlich ihre Produkte durch die Milzvene unmittelbar in den Pfortaderkreislauf übertragen, während ein hypothetischer Aktivator der Leber den ganzen Kreislauf passieren müßte, bevor er an seinen Bestimmungsort ankäme. Anderseits ist es leicht, sich vorzustellen, was die Hämolyse anbelangt, daß ein Organ, das ganz sicher für sich hämolytisch wirkt, durch ein anderes, das keine selbständigen hämolytischen Eigenschaften hat, aktiviert werden kann; schwerer wird man sich umgekehrte Verhältnisse vorstellen.

Die wesentlichen Resultate dieser Arbeit sind die folgenden:

1. Milzextrakt für sich allein hat so gut wie keine hämolytische Wirkung, wenn man nach Hamburgers Methode die Hämolyse prüft.

2. Leberextrakt allein hat eine gewisse hämolytische Wirkung von verschieden großer Ausbildung.

3. Setzt man im hämolytischen Versuch nach Hamburger zu Leberextrakt etwas Milzextrakt, so wird die Hämolyse ganz wesentlich gesteigert. Alle Extrakte werden mit isotonischer Kochsalzlösung benutzt.

4. Die im Milzextrakt enthaltene wirksame Substanz wird durch Kochen unwirksam gemacht.

5. Milzextrakt in physiologischer Kochsalzlösung macht eine geringfügige Zerstörung von Hämoglobin. Leberextrakt wirkt in etwas ausgesprochenerer Weise abbauend auf das Hämoglobin.

6. Zusatz von etwas Milzextrakt verstärkt sehr wesentlich den Abbau des Hämoglobins durch Leberextrakt.

7. Die hierfür in Betracht kommende wirksame Substanz in der Milz ist kochbeständig; durch besondere Versuche wurde festgestellt, daß die wirksame Substanz kein Lipoid ist. Ferner wurde nachgewiesen, daß in den Versuchen dieser Arbeit die wirksame Substanz in der Leber nicht Gallensäure war.

8. Der Abbau des Hämoglobins durch Leber + Milzextrakt führt zu einer Stufe, welche nicht mehr die Häminreaktion liefert, andererseits aber wird das Hämoglobin nicht so weit abgebaut, daß das Eisen in die nicht mehr maskierte Form übergeführt wird.

9. Aus diesen Tatsachen ergibt sich eine neue Funktion der Milz, die darin besteht, daß sie Stoffe an die Leber abgibt, die die Funktionen der Leber zu aktivieren, beziehentlich zu verstärken vermögen. Die Bedeutung dieser Tatsache für die Pathologie wird erörtert.

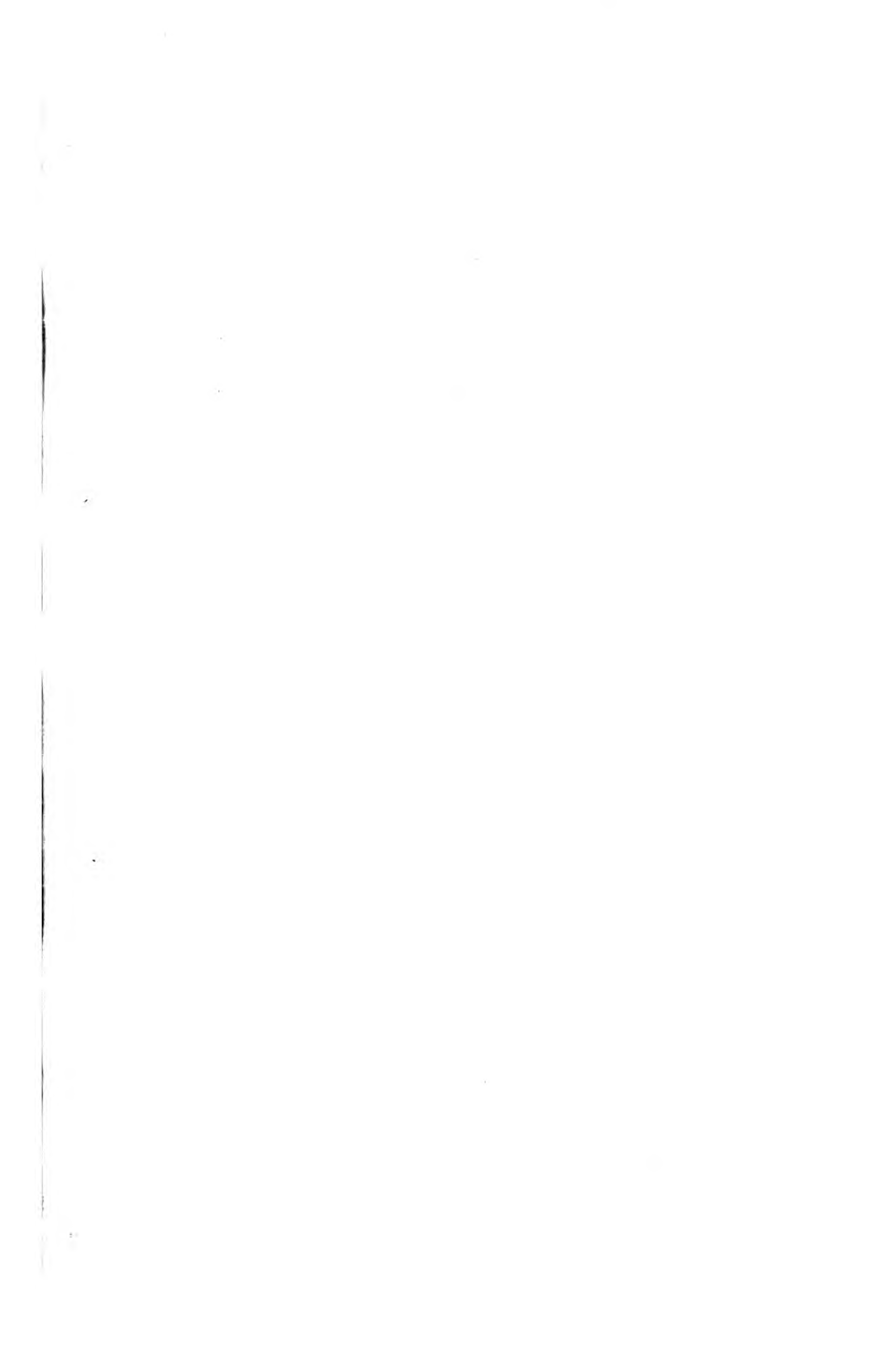
Literatur.

L. Asher, Centralbl. f. Physiol. 22, Heft 12.
L. Asher u. H. Großenbacher, Diese Zeitschr. **17**, 78.
L. Asher u. Zimmermann, Diese Zeitschr. **17**, 297.
L. Asher u. Hans Vogel, Diese Zeitschr. **43**, 386.
L. Asher u. H. Sollberger, Diese Zeitschr. **55**, 13.
Bayer, Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. **21**. 1910.
Derselbe, dito, **27**, 1914.
Roth, Zeitschr. f. klin. Med. **76**, 1912.
Pugliese et Luzzatti, Arch. ital. de Biol. **33**. 1900.
Strisower u. Goldschmidt, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **1914**.
Bottazzi, Arch. ital. de Biol. **1895**.
O. Decastello, Deutsche med. Wochenschr. **1914**.
Eppinger, Deutsche klin. Wochenschr. **1913**.
Eppinger u. Ranzi, Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. **27**.
Joannovics, Zeitschr. f. Heilkunde **25**.
Pel, Arch. f. klin. Med. **56**.
Port, Arch. f. experim. Path. u. Pharmakol. **73**.
Kohan, Folia haematologica, Heft 1, Nov. 1914.
Meyer, Zentralbl. f. die Grenzgeb. der Med. u. Chir. **1**, **1914**.
Huber, Folia haematologica. **1914**.

Autorenverzeichnis.








Princeton University Library
32101 079671432

